

Treball de Fi de Grau

Grau en Enginyeria en Tecnologies Industrials

Diseño de un fermentador para la obtención de biomoléculas

MEMORIA

Autor: Vicente Francisco Sanz Martínez
Director: Jordi Bou
Convocatòria: Juny 2017



Escola Tècnica Superior
d'Enginyeria Industrial de Barcelona



Resumen

El objetivo de este trabajo es el diseño de un fermentador, a nivel de planta piloto, para la obtención de 75 kg/año de ácido tartárico. Para llevar a cabo esta fermentación, se utilizará la bacteria *Acetobacter suboxydans* var. α IFO 3256 tomando como guía el estudio hecho por Kotera, Umehara, Kodama y Yamada.

Para poder realizar el diseño del fermentador, se ha hecho una introducción teórica de los conceptos clave. Primero de todo se ha definido el concepto de biorrefinería y química sostenible, ya que son dos conceptos clave a la hora de realizar este trabajo, que se basa en métodos alternativos para la obtención de un producto ya existente. También se ha definido el concepto de ácido tartárico, las propiedades físico-químicas, como se obtiene actualmente y las aplicaciones que tiene. Seguidamente se comentan varios estudios sobre la obtención de ácido tartárico mediante fermentación a partir de distintas bacterias. Por último, se explican los distintos tipos de biorreactores y sus características más importantes.

Se ha escogido un biorreactor de 382 L de volumen total de tipo tanque agitado que trabaja en lotes. Las dimensiones de la parte cilíndrica del fermentador serán de 0,990 m de altura y 0,660 m de diámetro. Contará con dos cúpulas de 0,120 m de altura. La productividad será de 6,3 g/L de ácido tartárico en fermentaciones de 6 días de duración. El tanque contará con 4 deflectores cilíndricos para ayudar a la mezcla del líquido. Se utilizarán 3 turbinas Rushton, 2 de ellas cubiertas por la altura del líquido y una de ellas en la parte superior que se utilizará para romper la espuma en caso de que se forme. Las turbinas girarán a 400 rpm impulsadas por un motor de 3,5 kW.

También se detallan las condiciones óptimas para realizar la fermentación.

Se han detallado las condiciones de seguridad para la manipulación del fermentador para así poder minimizar la posibilidad de accidentes.

Para cuantificar el coste del biorreactor, se ha hecho un estudio económico para conocer cuánto costaría materializar este trabajo. El coste del fermentador será de 25 408,01 €.

Finalmente, se ha hecho un estudio de impacto ambiental y se describe la organización del proyecto.

El trabajo concluye con el logro de los objetivos marcados al comienzo del trabajo.

Sumario

RESUMEN	1
SUMARIO	3
1. INTRODUCCIÓN	7
1.1. Motivación	7
1.2. Alcance del trabajo	8
2. OBJETIVOS	9
2.1. Objetivo general	9
2.2. Objetivos particulares.....	9
3. TEORÍA Y ESTADO DEL ARTE	11
3.1. Teoría 1: Las biorrefinerías y la química sostenible.....	11
3.1.1. Que es una biorrefinería?.....	11
3.1.2. La química sostenible	11
3.2. Teoría 2. Ácido tartárico.....	14
3.2.1. Introducción.....	14
3.2.2. Isomorfismos ópticos	15
3.2.3. Propiedades físicas.....	16
3.2.4. Propiedades químicas.....	17
3.2.5. Materiales de partida.....	18
3.2.6. Producción	18
3.2.6.1. Producción del ácido L (+) – tartárico	18
3.2.6.2. Síntesis química	20
3.2.7. Especificaciones de calidad	20
3.2.8. Aspectos medioambientales	21
3.2.9. Aplicaciones.....	21
3.3. Teoría 3. Estudios para la obtención de ácido tartárico por fermentación...	22
3.3.1. Induction of Mutants from the Tartrate Producing Bacterium, <i>Gluconobacter suboxydans</i> and their Properties	22
3.3.2. Isolation Method of Highly Tartaric Acid Producing Mutants of <i>Gluconobacter suboxydans</i>	23
3.3.3. Production of Tartaric Acid by LSCF Process	25
3.3.4. Continuous production of L(+) – tartaric acid from cis-epoxysuccinate using a membrane recycle reactor.....	26
3.4. Teoría 4. Biorreactores y fermentadores	28
3.4.1. Definición	28
3.4.2. Tipos de biorreactores según su modo de operación.....	28

3.4.2.1. Discontinuo (batch).....	28
3.4.2.2. Semicontinuo (batch alimentado)	29
3.4.2.3. Continuo	29
3.4.3. Consideraciones de diseño	30
3.4.3.1. Temperatura.....	31
3.4.3.2. pH.....	31
3.4.3.3. Oxígeno disuelto	32
3.4.3.4. Agitación.....	33
3.4.3.5. Espuma	35
3.4.4. Modelos de crecimiento	35
3.4.5. Parámetros de rendimiento	38
3.4.6. Criterios para el diseño	42
4. MATERIALES Y EQUIPO	43
5. RESULTADOS	44
5.1. Condiciones de la fermentación.....	44
5.1.1. Temperatura	45
5.1.2. pH	46
5.1.3. Oxígeno disuelto	46
5.1.4. Agitación	46
5.1.5. Cultivo	46
5.2. Selección del fermentador	48
5.2.1. Características del fermentador tipo batch	48
5.3. Parámetros de diseño	52
5.3.1. Capacidad de producción	52
5.3.2. Parámetros de forma	52
5.3.3. Volumen.....	54
5.3.4. Geometría	54
5.3.5. Agitación	56
5.3.6. Motor.....	58
5.3.7. Deflectores	63
5.3.8. Aireación	64
5.3.9. Control de la temperatura.....	65
5.3.10. Control del pH	66
5.3.11. Espuma.....	66
5.3.12. Materiales	67
5.3.13. Cálculo del grosor de la chapa.....	67
5.3.14. Cálculo soporte del biorreactor	68
5.3.15. Tapa.....	72

5.3.16. Puertos.....	73
5.3.17. Salidas	73
5.3.18. Válvulas	73
5.4. Diseño del biorreactor y planos.....	74
6. SEGURIDAD	82
7. ESTUDIO ECONÓMICO	84
8. IMPACTO AMBIENTAL	87
9. ORGANIZACIÓN DEL PROYECTO	89
CONCLUSIONES	91
AGRADECIMIENTOS	93
BIBLIOGRAFÍA	94

1. Introducción

El ácido tartárico es un producto natural procedente de los subproductos de la uva. Se aplica en la industria química, farmacéutica y alimenticia entre otras.

Actualmente existen varios procedimientos para la obtención de ácido tartárico.

Uno de ellos consiste en separar el tartrato ácido de potasio que se ha producido en la fermentación de la uva, durante la producción del vino. Posteriormente, para pasarlo químicamente a ácido tartárico, se ha de tratar este subproducto con hidróxido de calcio dando como resultado el tartrato cálcico. Finalmente, este producto intermedio se trata con ácido sulfúrico concentrado, hidrolizándolo a ácido tartárico y un subproducto llamado sulfato de calcio. La separación se hace agregando propanol, solubilizando el ácido tartárico y precipitando el sulfato de calcio.

1.1. Motivación

En la sociedad actual que vivimos, muchos de los productos industriales que obtenemos en la industria química son derivados del petróleo. Debido a que actualmente tenemos mayor consciencia de proteger el medio ambiente, ha surgido la preocupación y el interés por minimizar y prevenir la contaminación desde el origen.

Por ese motivo, se ha desarrollado una filosofía llamada *química verde*, la cual consiste en buscar nuevas formas de sintetizar sustancias químicas de forma que implique una eliminación o reducción de productos químicos.

Debido a todo esto, la sociedad está obligada a poder desarrollar nuevas fuentes de materias primas a partir de productos naturales, para así poder elevar la producción de un producto en particular sin tener un gran impacto sobre el medio ambiente.

Actualmente, el ácido tartárico se extrae de las uvas y con la producción actual se cubre perfectamente la demanda de este producto, pero en el caso de que aumentara la demanda de ácido tartárico, habría un problema ya que se deberían de plantar más uvas y realizar el proceso con el que actualmente se extrae ácido tartárico.

Así que la finalidad de este trabajo es poder contribuir a la química sostenible y diseñar un reactor en el cual se lleve a cabo la fermentación bioquímica del ácido tartárico.

1.2. Alcance del trabajo

Debido al interés industrial del ácido tartárico, sobretodo en la industria alimentaria ya que es un producto comestible, este trabajo consistirá en el diseño de un biorreactor de pequeñas dimensiones, a nivel de planta piloto, incluyendo todas las condiciones operativas, para poder obtener ácido tartárico, un compuesto químico no tóxico altamente versátil para la síntesis de compuestos químicos. Este diseño facilitaría el escalado a nivel industrial, en caso de que fuese necesario.

2. Objetivos

2.1. Objetivo general

El objetivo principal del trabajo es el diseño de un biorreactor, a nivel de planta piloto, para la obtención de ácido tartárico mediante fermentación con una producción de 75 kg / año.

2.2. Objetivos particulares

Los objetivos particulares del trabajo serán:

- i. Selección del procedimiento adecuado para la obtención del ácido.
- ii. Conocimiento de la productividad del ácido.
- iii. Seleccionar el tipo de fermentador para una producción de 75 kg / año.
- iv. Presentar un diseño original del fermentador.
- v. Determinar volumen, geometría, agitación, alimentación, materiales.
- vi. Determinar las medidas de seguridad adecuadas a la hora de trabajar con el reactor.

3. Teoría y estado del arte

3.1. Teoría 1: Las biorrefinerías y la química sostenible

Actualmente se están buscando métodos de obtención de productos industriales sin la necesidad de utilizar el petróleo como materia prima. Debido a este interés por utilizar nuevos procedimientos para la obtención de productos ya existentes, se están utilizando nuevos términos a nivel industrial. Entre ellos están las biorrefinerías y la química sostenible.

3.1.1. Que es una biorrefinería?

La Agencia de Energía Internacional ha definido biorrefinación como: *procesamiento de manera sostenible de biomasa para lograr su conversión en una variedad de productos bio-compuestos (comida, sustancias químicas, materia prima) y bioenergía (biocombustibles, energía y/o calor)*. [2]

Las biorrefinerías son instalaciones que transforman biomasa en productos industriales de forma sostenible. Aquí vemos la principal diferencia con las refinerías convencionales las cuales refinan el petróleo con la finalidad de obtener productos derivados. En las biorrefinerías, la materia prima que se utiliza es la biomasa. [1]

En las biorrefinerías, partiendo de recursos biológicos como cultivos tradicionales, residuos orgánicos de origen agrícola, ganadero, forestal, industrial o urbano; se obtienen productos energéticos, alimentos, piensos, fertilizantes y bioproductos entre otros.

Las biorrefinerías se clasifican según su funcionamiento. Tenemos por un lado las refinerías verdes, en las cuales se manejan sistemas sostenibles y trabajan con material biológico que no es de prioridad alimentaria. Por otro lado tenemos las biorrefinerías de cultivo completo que se caracterizan por procesar material biológico para la obtención de productos de valor agregados como polímeros, aceites y polisacáridos adicionales a los biocombustibles producidos.

3.1.2. La química sostenible

La química sostenible, también conocida como química verde aporta una mejora de calidad y bienestar de la población. Busca encontrar alternativas a la química tradicional, que en ocasiones, representa peligro para la salud y el medio ambiente.

Debido a la preocupación actual por temas medioambientales, en los últimos años se ha hecho un enfoque en los procesos industriales de prevenir o minimizar la contaminación desde el origen. De esta forma en vez de tratar los residuos obtenidos de los procesos, lo

que se busca es eliminar y minimizar al máximo los residuos creados. Por este motivo la química sostenible se encarga del diseño de productos y procesos industriales en los que se reducen o eliminan el uso y producción de sustancias peligrosas. [3]

Esta corriente se basa en 12 principios que se definen a continuación [4]:

- i. **Prevención.** Es mejor prevenir la formación de residuos que eliminarlos una vez creados.
- ii. **Economía atómica.** El producto acabado en los diseños de síntesis ha de incorporar el máximo posible de materiales utilizados durante el proceso.
- iii. **Síntesis segura.** Minimizar la toxicidad en el diseño de los métodos sintéticos. Idealmente no ha de tener ninguna, y en la práctica ha de minimizarse en la medida de lo posible.
- iv. **Productos seguros.** En cuanto al diseño de productos químicos, se debe preservar la eficacia de su función presentando una toxicidad escasa.
- v. **Disolventes seguros.** Uso mínimo de sustancias auxiliares (disolventes, absorbentes, etc.), siempre optando por las más inocuas.
- vi. **Eficiencia energética.** Las necesidades energéticas deben ser consideradas en relación a sus impactos ambientales y económicos. Los métodos sintéticos deben ser llevados a temperatura y presión ambiente.
- vii. **Fuentes renovables.** Las materias de partida deben ser renovables y no extinguibles, en la medida que esto resulte practicable técnica y económicamente.
- viii. **Evitar derivados.** La formación innecesaria de derivados (bloqueo de grupos, protección/desprotección, modificación temporal de procesos físicos/químicos) debe ser evitada en cuanto sea posible.
- ix. **Catalizadores.** Los reactivos catalíticos (tan selectivos como sea posible) son superiores a los estequiométricos.
- x. **Biodegradabilidad.** Los productos químicos han de ser diseñados de manera que, al final de su función, no persistan en el ambiente, sino que se fragmenten en productos de degradación inerte.

- xi. **Polución.** Se deben desarrollar las metodologías analíticas que permitan el monitoreo a tiempo real durante el proceso y el control previo a la formación de sustancias peligrosas.
- xii. **Prevención de accidentes.** Las sustancias y las formas de su uso en un proceso químico, deben ser elegidas de manera que resulte mínima la posibilidad de accidentes.

3.2. Teoría 2. Ácido tartárico

3.2.1. Introducción

El ácido tartárico es una mezcla de diácido y dialcohol, su fórmula empírica es $C_4H_6O_6$.

También es conocido como acidum tartaricum, ácido 2,3-dihidroxisuccínico y, de acuerdo con la nomenclatura oficial IUPAC, 2,3-dihidroxiutanodioico. La estructura de los ácidos tartáricos la podemos ver en la figura 1.

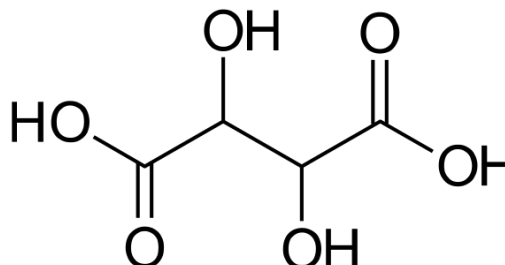


Figura 1: Estructura del ácido tartárico [6]

Los dos carbonos secundarios son asimétricos, ya que están unidos a cuatro radicales distintos, $-COOH$, $-H$, $-OH$, $-CHOH$, pero iguales para cada carbono. Por lo que existirán dos formas ópticamente activas y otras dos formas ópticamente inactivas.

Como formas ópticamente activas tenemos el ácido dextro-tartárico, estructuralmente conocido como L (+) – tartárico y ácido levo-tartárico, también conocido como D (-) tartárico, rotando el plano de polarización con luz polarizada. Estas dos formas, que son enantiómeros, tienen idénticas propiedades físicas y químicas. Las potencias de rotación ópticas son iguales con signo opuesto.

En cuanto a las formas ópticas inactivas, tenemos el ácido DL-tartárico o ácido tartárico racémico, obtenido por síntesis química, es una mezcla equimolar de los dos enantiómeros; el ácido meso-tartárico es inactivo debido a la compensación interna. Estas dos formas no tienen reacción con luz polarizada. Ambos tienen las mismas propiedades químicas, igual que las formas activas, pero difieren en algunas propiedades físicas.

El ácido tartárico fue caracterizado por Carl Wilhelm Scheele, que extrajo por descomposición su sal de calcio con ácido sulfúrico. Este método aún sigue usándose para extraer ácido tartárico. Jöns Jacob Berzelius, estableció la fórmula estructural en 1830. Louis Pasteur, entre 1848 y 1860, hizo uno de los descubrimientos más importantes de la química orgánica mientras estudiaba la asimetría y la actividad óptica de las sales del ácido tartárico, estableció las relaciones entre el ácido racémico y los ácidos levo-tartárico y dextro-tartárico.

El ácido dextro-tartárico o L (+) – tartárico es la única forma natural y la más importante a nivel comercial. Se distribuye ampliamente a nivel industrial, ya sea en su forma original o en sales. Se encuentra en muchas frutas, especialmente en las uvas en forma de tartrato ácido de potasio que precipita en la fermentación del mosto y del que se obtiene el ácido.

Durante la fermentación del vino, el tartrato ácido de potasio se convierte en insoluble y cristaliza en las paredes de la cuba. Este producto, llamado tartrato, se recoge y se utiliza como materia prima para la producción de ácido L (+) – tartárico.

3.2.2. Isomorfismos ópticos

El convenio usando los símbolos l, d, L, D para denominar a los enantiómeros puede dar lugar a confusiones. Las reglas de Cahn-Ingold-Prelog, utilizadas en compuestos que tienen uno o más centros, han sido un sistema mejorado para la nomenclatura de estos compuestos. Se usan los símbolos R (del latín derecha) y S (izquierda). Este sistema permite clasificar los compuestos sin que haya confusiones.

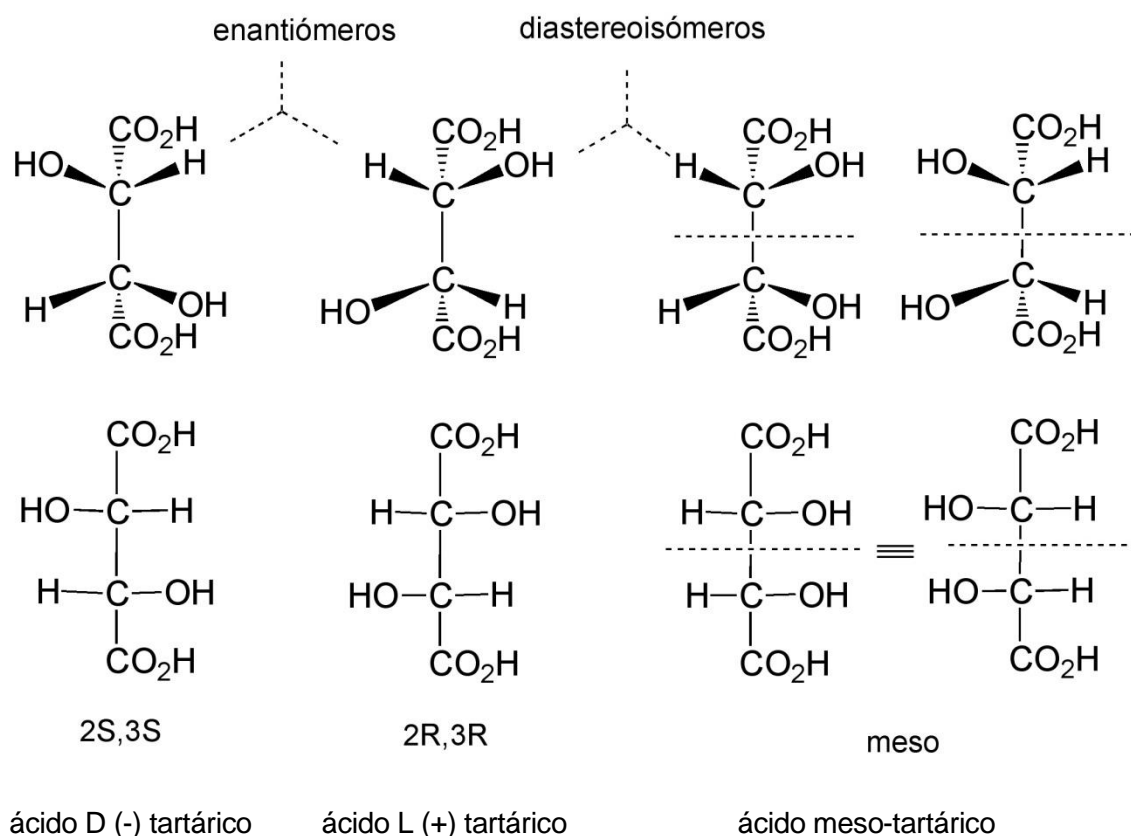


Figura 2: Enantiómeros del ácido tartárico

3.2.3. Propiedades físicas

Se describirán las propiedades físicas de las formas ópticamente activas del ácido tartárico. Como ya se ha comentado en el apartado anterior, las propiedades físicas del ácido L (+) – tartárico y del ácido D (-) – tartárico serán idénticas. En la tabla 1 podemos observar una comparación de las propiedades físicas de los isómeros ópticos del ácido tartárico.

	L(+), D(-) Tartaric acid	Racemic tartaric acid	meso- Tartaric acid
Crystal form	monoclinic prisms	triclinic prisms	tetragonal plates
Density, g/cm ³	1.7598	1.788	1.666
Melting point, °C (anhydrous)	169 – 170	206	159 – 160
Solubility, g/100 g H ₂ O (25 °C)	147	25	167
Solubility of potassium bitartrate, g/100 g H ₂ O (20 °C)	0.57	0.56	13.2
Solubility of calcium salt, g/100 g H ₂ O (20 °C)	0.026	0.004 *	0.034
Water molecules in hydrated Ca salt	4	8	3

* 25 °C.

Tabla 1: Propiedades físicas de los isómeros ópticos del ácido tartárico [7]

El ácido tartárico tiene una masa molecular de 150,09. Cristaliza a estado anhidro a partir de una temperatura de 5°C. Densidad de 1,7598 g/cm³, punto de fusión de 169-170°C. Tiene un fuerte sabor ácido y es inodoro. Es estable en el aire.

Se descompone a temperaturas superiores a 220°C con un olor a azúcar caramelizado. El ácido tartárico es muy soluble en agua. En la tabla 2 se puede observar como varia la solubilidad con la temperatura.

t, °C	0	5	10	20	30	40
g /100 g H ₂ O	115	120	125	139	156	176

t, °C	50	60	70	80	90	100
g /100 g H ₂ O	195	218	244	273	307	343

Tabla 2: Variación de la solubilidad del ácido tartárico con la temperatura [7]

Tal como se puede ver en la tabla 2, la solubilidad del ácido tartárico aumenta con la temperatura.

También es soluble en alcohol: en 100 gramos de alcohol se disuelven 20,4 gramos de ácido tartárico a 18°C. Es menos soluble en éter, 100 gramos de dietil de éter disuelven 0,3 gramos de ácido tartárico a 18°C.

Las soluciones de ácido tartárico tienen un poder rotatorio que varía según su concentración:

$$\alpha = [\alpha]_D^{20} \cdot c \cdot L$$

Ec. 1

Donde c es la concentración de ácido tartárico en agua y L el camino óptico.

La constante $[\alpha]_D^{20}$ es el poder rotatorio específico, que en este compuesto vale 12,0 ° (positivo para el L, negativo para el D).

La entalpia de combustión para el ácido tartárico es de 1149,9 kJ/mol. Su capacidad calorífica específica (0 – 100°C) es de 1237 kJ·kg⁻¹·K⁻¹.

El ácido tartárico es un diácido. Sus constantes de disociación electrolítica a 25°C son de $K_1 = 1,17 \cdot 10^{-3}$, $K_2 = 5,0 \cdot 10^{-5}$.

El punto de ebullición para una solución del 25% es de 101,2°C y para una solución del 50% es de 107,7°C.

El índice de refracción en el punto de fusión n_D^{170} es de 1,464.

3.2.4. Propiedades químicas

El ácido tartárico se funde alrededor de los 170-180°C y se isomeriza sin pérdida de agua a ácido meta tartárico. Si se continúa aumentando de temperatura se obtienen anhídridos amorfos que regeneran el ácido tartárico cuando se hierve con agua. A los 220°C el ácido tartárico se descompone, se hincha y se prende dejando un residuo carbonizado.

El ácido tartárico es muy sensible a los agentes oxidantes. La reacción de Fenton involucrando oxidación con peróxido de hidrógeno en presencia de sulfato ferroso conduce a la reacción de ácido dioximaleico.

La reducción con ácido yodhídrico, conduce a la formación de ácido succínico.

El ácido tartárico actúa como agente complejante, previniendo la precipitación de sales de metales pesados por bases.

La ebullición prolongada de soluciones de ácido L (+) – tartárico en presencia de bases (potasio e hidróxidos de sodio) produce el ácido racémico y meso ácidos.

3.2.5. Materiales de partida

El ácido L (+) – tartárico es el único de los cuatro isómeros que se produce industrialmente a gran escala. Los materiales de partida son únicamente el residuo natural que proviene de la vinificación. El ácido tartárico se encuentra en estos residuos básicamente en forma de bitartrato de potasio y tartrato de calcio en menor cantidad. Dependiendo de la concentración de ácido tartárico y de la composición, estos materiales de partida se clasifican en cuatro tipos.

- i. Tártaro. Se deposita por cristalización en las paredes de las cubas de vino cuando la concentración de alcohol etílico aumenta. Contiene un 80-90% de bitartrato de potasio.
- ii. Lees (poso). Estos se depositan en la parte inferior de la cuba. Contiene entre 19-38% de bitartrato de potasio.
- iii. Dried Lees (poso seco). Son los posos anteriores que han sido tratados y contienen un 55-70% de bitartrato de potasio.
- iv. Tartrato. Este es producido por las destilerías a partir del residuo obtenido al prensar las uvas. Después de la destilación para eliminar el alcohol, se precipitan con hidróxido de calcio en forma de tartrato de calcio

3.2.6. Producción

De los isómeros que se han comentado anteriormente, solamente se producen dos a nivel industrial. Principalmente el ácido L (+) – tartárico se produce a gran escala, pero también el ácido racémico se produce en pequeñas cantidades por síntesis química.

3.2.6.1. Producción del ácido L (+) – tartárico

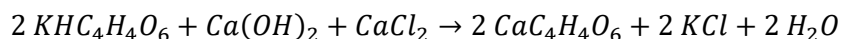
Los principales países productores de ácido tartárico son España, Francia e Italia. Todos los procesos para la producción de ácido tartárico, se basan en la descomposición del tartrato de calcio con ácido sulfúrico.

Se utilizan dos métodos para convertir la materia prima a tartrato de calcio, uno de ellos es el proceso ácido Scheurer-Kestner, y el otro el proceso neutro Scheele-Lowitz, junto con la variante Desfosses. Actualmente, únicamente se emplea un proceso neutro, ya que es menos costoso. Este proceso neutro se explica a continuación.

Después de triturar el material de partida seco, ya sea tártaro o poso, se calienta durante dos horas a 160°C para eliminar el material orgánico que pueda interferir en la filtración.

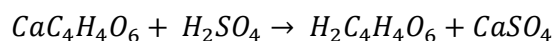
Después del calentamiento, el producto aún caliente se pasa a un reactor donde se diluye con agua y se neutraliza a un pH 5 con hidróxido de calcio. La reacción se mantiene a una temperatura de 70°C. Para conseguir una reacción más completa y reducir pérdidas, se añade cloruro de calcio o sulfato de calcio en exceso del 10% con respecto a la cantidad estequiométrica.

Tiene lugar la siguiente reacción química:



El tartrato de calcio se separa del líquido resultante por filtración sobre un filtro rotatorio y un posterior lavado. El tartrato obtenido de las destilerías permite omitir esta etapa.

La segunda etapa es la descomposición del tartrato de calcio en solución acuosa con ácido sulfúrico, que produce una solución de ácido tartárico y sulfato de calcio insoluble.



Para optimizar la reacción, es necesario un exceso de ácido sulfúrico de aproximadamente un 5% con respecto al ácido tartárico. La parte sólida obtenida por esta descomposición se filtra y se lava.

La solución de ácido tartárico se recupera con una concentración de unos 200 g/L. Las aguas de lavado se reciclan de la etapa de descomposición y el sulfato de calcio se desecha como residuo.

La solución de ácido tartárico se concentra en evaporadores al vacío a una temperatura de 70°C hasta una concentración de 650 g/L. Esta nueva solución se concentra nuevamente con la ayuda de un aparato adecuado al vacío a una temperatura de 70°C hasta que aparezcan cristales con una concentración de 1300 g/L.

Esta mezcla de cristales y líquido se pasan a cristalizadores donde se enfría lentamente para obtener la mayor cantidad de producto cristalizado.

Después de que la mezcla se haya enfriado, se seca en centrifugadoras donde los cristales se separan del líquido. Este líquido se somete a evaporación repetida, granulación y ciclos de secado para poder recuperar el máximo de ácido tartárico granulado.

Los gránulos obtenidos en cada operación son enfriados para dar una solución de ácido tartárico con concentración de 650 g/L, que luego se decolora con carbón activado y se reduce químicamente el exceso de hierro y ácido sulfúrico. Esta operación se produce a una temperatura de 70°C.

Posteriormente esta solución pasa a través de un filtro prensa y se vuelve prácticamente incolora, luego se concentra al vacío hasta que empieza la cristalización que se pasa a los cristalizadores.

Esta segunda mezcla de cristales y líquido se separa por centrifugación. El líquido, que aún contiene ácido tartárico, se somete a evaporación repetida, granulación y ciclos de secado antes de retirarlo. Los granos que quedan, se secan en un horno a una temperatura de 140°C y se hace una separación en diferentes tamaños de grano, desde 2000 µm a tamaños inferiores de 100 µm (polvo).

3.2.6.2. Síntesis química

El ácido racémico se produce a partir del ácido maleico y sus sales. El ácido maleico en solución acuosa se oxida con peróxido de hidrógeno al 35% en presencia de tungstato de potasio. Se forma ácido epoxisuccino tartárico que se hidroliza en ebullición a ácido racémico. Este se recupera después de enfriar, centrifugar, lavar i secar.

El ácido racémico se produce comercialmente con pequeña producción en Sudáfrica.

3.2.7. Especificaciones de calidad

El ácido L (+) – tartárico, 2,3-dihidroxibutanoico (2R, 3R) se usa principalmente en productos alimenticios y la industria farmacéutica, por este motivo tiene que cumplir unos criterios de calidad muy estrictos definidos en la farmacopea de cada país.

En la siguiente tabla podemos ver los límites de calidad de la farmacopea europea.

Tartaric acid content	99.5 – 101 %
Loss on drying	≤ 0.2 %
Calcination residue	≤ 0.1 %
Rotatory power in 20 % wt/vol solution	+ (12 – 12.8°)
Sulfates	≤ 150 ppm
Chlorides	≤ 100 ppm
Calcium	≤ 200 ppm
Heavy metals	≤ 10 ppm
Oxalic acid	≤ 350 ppm

Tabla 3: Calidad según la farmacopea europea [7]

3.2.8. Aspectos medioambientales

Para la producción del ácido L (+) – tartárico, el residuo sólido se desecha en contenedores adecuados antes de enviarlos a vertederos autorizados para este tipo de residuos. El residuo líquido se recoge, se trata con hidróxido de calcio y se filtra antes de desecharse por el desagüe común, donde se trata como un residuo doméstico más en las plantas municipales de depuración.

Es obligatorio un análisis diario de la DQO (Demanda Química de Oxígeno), Materia en Suspensión y de Sulfatos en el residuo que se desecha.

Tanto el ácido tartárico como sus sales son compuestos biodegradables.

3.2.9. Aplicaciones

El ácido tartárico es un acidificante y conservante natural (E-334). Se usa mayoritariamente en alimentación, farmacéuticas y en industrias vitivinícola. [8]

Más concretamente, el ácido L (+) – tartárico, tiene las siguientes aplicaciones:

- i. Acidificación de mostos
- ii. Acidificante y potenciador de sabor en golosinas, mermeladas, helados, gelatinas y pastas.
- iii. Conservante de frutas, verduras y pescado, donde actúa como antioxidante y estabiliza el pH, el color y el sabor.
- iv. En grasas y aceites como antioxidante.
- v. Preparación de bebidas carbonatadas.
- vi. En la industria farmacéutica.
- vii. En la industria del cemento.
- viii. Pulido y limpieza de metales.

3.3. Teoría 3. Estudios para la obtención de ácido tartárico por fermentación

En los últimos años, muchos científicos han estudiado la posibilidad de obtener ácido tartárico por fermentación. En estos estudios, se trata de obtener ácido tartárico por métodos alternativos a los explicados anteriormente.

En este apartado se presentarán algunos estudios, los cuales son interesantes a la hora de tomarlos como referencia para el diseño del biorreactor en el cual se producirá la fermentación.

3.3.1. Induction of Mutants from the Tartrate Producing Bacterium, *Gluconobacter suboxydans* and their Properties

Este primer estudio ha sido desarrollado por Toru Kodama, Uichiro Kotera y Koichi Yamada. [9]

En este estudio se utilizan mutantes de la bacteria *Gluconobacter suboxydans*. Esta bacteria es mutada de dos maneras, una con rayos ultravioletas y otra con un agente químico, *N-Methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine* (NTG).

A través de este método y usando distintos tipos de mutaciones de la bacteria original se pueden obtener los siguientes resultados de productividad de ácido tartárico.

Parent strain	No. of strains tested	Tartaric acid formed g/liter							Max Yield g/liter
		~4	4~5	5~6	6~7	7~8	8~9	9~10	
2026Y2	1000 ^{a)}	986	11	2	1	0	0	0	6.2
N-71	400 ^{a)}	383	17	0	0	0	0	0	4.9
N-71	300	254	14	21	8	3	0	0	7.7
N-2000	386		386	0	0	0	0	0	4.8
N-2523	150		130		6	9	2	3	9.2
Total	2236				15	12	2	3	

^{a)} Glucose 10%.

Tabla 4: Productividad de ácido tartárico por bacterias mutadas por rayos ultravioletas [9]

TABLE II. DISTRIBUTION OF T.A. PRODUCTIVITY OF NTG-TREATED STRAINS

Parent strain	No. of strains tested	Tartaric acid formed g/liter												Max. Yield g/liter
		~4	4~5	5~6	6~7	7~8	8~9	9~10	10~11	11~12	12~13	13~14	14~15	
2026Y2	1700 ^{a1}	1677	12	7	4	0	0	0	0	0	0	0	0	6.8
N-71	232 ^{a1}	213	11	8	0	0	0	0	0	0	0	0	0	5.8
N-71	734	668		24	22	18	1	1	0	0	0	0	0	9.3
N-2000	765		750			9	2	2	1	1	0	0	0	11.1
N-2523	300			260			32	8	0	0	0	0	0	9.8
N-3122	1623				1386			125	76	35	1	0	0	12.3
N-3640	347				331			7	6	3	0	0	0	11.4
N-3880	1665				1486			48	84	41	6	0	0	12.8
N-4548	2056				1717			128	94	63	35	15	4	14.6
Total	9422							319	261	139	42	15	4	

^{a1} Glucose 10%.

Tabla 5: Productividad de ácido tartárico por bacterias mutadas por NTG [9]

Con los datos de las tablas 4 y 5 se puede observar que la producción máxima de ácido tartárico respecto al método de mutación por rayos ultravioleta es de máximo 9,2 g/L. En el caso de mutaciones por el agente químico NTG se pueden obtener valores de hasta 14,6 g/L de ácido tartárico.

Estos valores de productividad de ácido tartárico se producen trascurrida una fermentación de duración de 6 días.

3.3.2. Isolation Method of Highly Tartaric Acid Producing Mutants of *Gluconobacter suboxydans*

Este segundo estudio ha sido desarrollado por Uichiro Kotera, Kazuyoshi Umehara, Toru Kodama y Koichi Yamada. [10]

En este estudio, se intenta aumentar la productividad del ácido tartárico a partir del *Gluconobacter suboxydans* IAM 1829 por mutación usando el método de aislamiento.

El medio en el que se lleva a cabo la fermentación es a base de glucosa. El medio se puede observar en la figura 3.

Glucose-CSL Medium	
Glucose	50 g
CSL	3
NH ₄ Cl	1.5
KH ₂ PO ₄	1
MgSO ₄ 7aq	0.25
MnSO ₄ 5aq	0.048
NH ₄ VO ₃	0.1
CaCO ₃	10
Distilled W.	1 liter

Figura 3: Medio de Glucosa donde se produce la fermentación [10]

En este medio, después de 6 días de fermentación se obtienen las siguientes concentraciones de ácido tartárico a partir de diferentes bacterias.

	pH	Acidity (eq/liter)	TA (g/liter)
<i>Glu. suboxydans</i> IAM 1829	2.6	0.50	5.3
<i>Glu. oxydans</i> IAM 1823	2.6	0.51	4.7
<i>Glu. industrium</i> IAM 1816	2.5	0.50	5.1
<i>Acet. suboxydans</i> BA 150	2.5	0.50	4.4
<i>Acet. suboxydans</i> BA 142	2.6	0.52	6.0
<i>Acet. suboxydans</i> var. α IFO 3256	2.6	0.50	6.3
<i>Acet. suboxydans</i> var. α IFO 3258	2.6	0.49	4.8
<i>Acet. suboxydans</i> var. α IFO 3255	2.7	0.40	3.0

Tabla 6: Productividad de ácido tartárico [10]

A partir de los datos vistos en la tabla 6, se ha decidido utilizar como bacteria la *Acet. suboxydans* var. α IFO 3256, la cual se obtendrá comprandola a un laboratorio especializado en mutación de baterias. El medio utilizado será el visto en la figura 3.

3.3.3. Production of Tartaric Acid by LSCF Process

En este estudio se determinan las condiciones idóneas para la fermentación de ácido tartárico utilizando melaza como medio de fermentación. Se utiliza el hongo *Aspergillus niger* NCIM-114. [11]

En la siguiente tabla, se observa el efecto de concentración del sustrato de melaza, pH, temperatura y el periodo de incubación para la biosíntesis del ácido tartárico con el proceso LSCF.

% of Molasses	pH values	Temp. in ($^{\circ}$ C)	Incubation period in days	Corresponding yield of tartaric acid in g/100 ml			
3	12	10	2	0.43	nd	3.17	2.51
9	14	15	4	0.010	nd	5.02	2.90
18	1.6	20	6	6.02	2.51	7.17	5.53
30	1.8	30	8	8.09	3.18	8.12	5.71
40	1.9	31	10	11.16	4.02	8.12	6.00
45	2.0	36	12	14.20	8.09	8.14	8.15
55	2.4	38	14	nd	8.22	7.88	7.84
60	2.6	40	22	nd	6.07	nd	nd
65	2.8	45	25	nd	4.35	nd	nd
70	3.0	50	30	nd	2.28	nd	nd

Tabla 7: Efecto de los parámetros en la productividad de ácido tartárico [11]

Según los datos de la tabla 7 se puede observar que las condiciones idóneas para la fermentación de ácido tartárico se producen cuando la melaza es del 45 % (w/v), se fermenta durante 12 días a una temperatura de 36 $^{\circ}$ C manteniendo un pH 2,4 en el medio de fermentación.

3.3.4. Continuous production of L(+) – tartaric acid from cis-epoxysuccinate using a membrane recycle reactor

Este estudio ha sido desarrollado por Ronnie Willaert y Luc de Vuyst. [12]

La producción del ácido tartárico se realiza mediante tres reactores en serie ubicados según la figura 4.

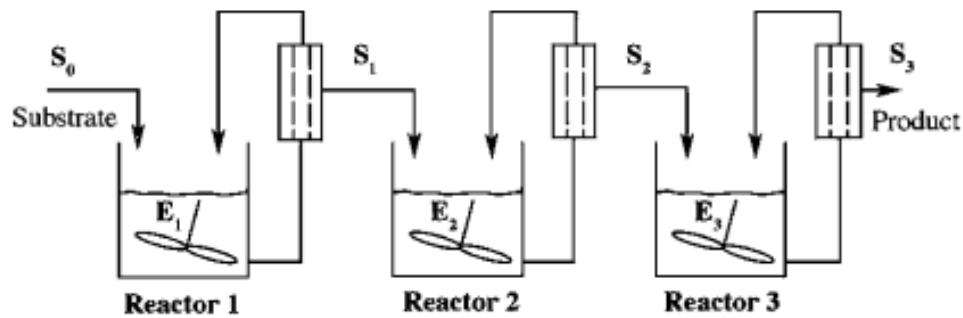
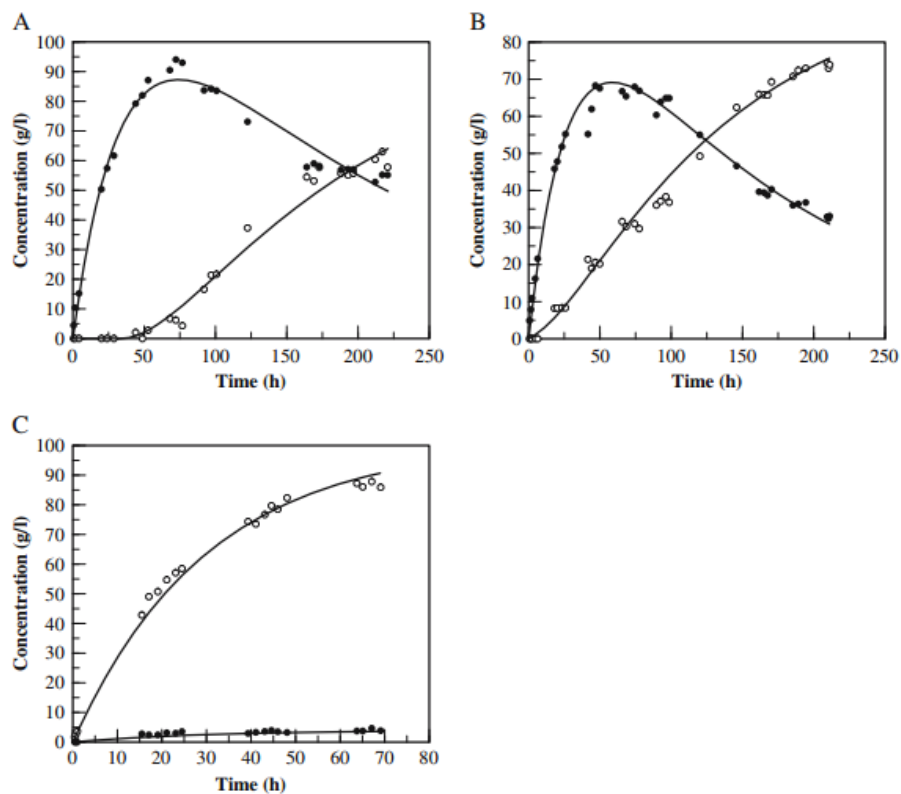


Figura 4: Proceso continuo de bioconversión utilizando tres reactores de membrana en serie [12]

Las condiciones idóneas para la fermentación es de pH 7, 8 y 9,5 en cada reactor respectivamente.



Comprovamos que finalmente se alcanzan concentraciones de 90 g/L de ácido tartárico a las 65 horas de fermentación.

3.4. Teoría 4. Biorreactores y fermentadores

3.4.1. Definición

Un biorreactor es un recipiente o sistema que mantiene un ambiente biológicamente activo. En algunos casos, un biorreactor es un recipiente en el que se lleva a cabo un proceso químico que involucra organismos. Este proceso puede ser aeróbico o anaeróbico. Estos biorreactores son comúnmente cilíndricos y fabricados de acero inoxidable.

En general, un biorreactor busca mantener ciertas condiciones ambientales propicias al organismo o sustancia química que se cultiva. Estas condiciones pueden ser el pH, temperatura y concentración de oxígeno entre otras.

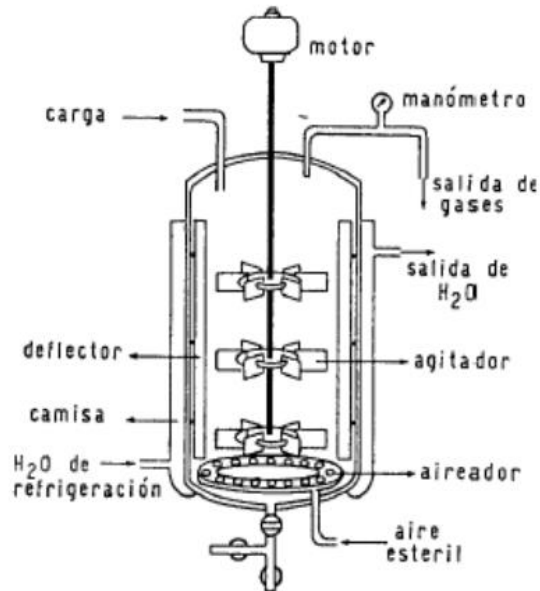


Figura 6: Tanque agitado [21]

3.4.2. Tipos de biorreactores según su modo de operación

El modo de operación de un sistema de cultivo es el modo de operar del biorreactor o fermentador. Éste influye en el diseño propio del reactor y, también, en el modelo cinético de crecimiento del cultivo y en el proceso de producción. Existen tres modos de cultivo aunados a tres modos básicos de producción: discontinuo, semicontinuo y continuo. [17]

3.4.2.1. Discontinuo (batch)

Este modo de operación se caracteriza por realizarse en lotes o tandas. La fermentación se desarrolla en un sistema cerrado y sin alimentación. Se coloca dentro del biorreactor la carga total del proceso de cultivo o fermentación y se deja el tiempo necesario para que se lleve a cabo el proceso productivo o la fermentación. No hay entrada ni salida de medio de cultivo. A estos reactores se les carga una vez de forma total o por intervalos durante varios días y se descarga todo el producto al final de la operación. [18][19]

Ventajas:

- Bueno para pequeños volúmenes de producción.
- Procesamiento de una gran variedad de sustratos.
- Inversión inicial baja.
- Fácil de parar y limpiar.
- Admite cargas secas y con alta humedad.
- Trabajo en ciclos para una operación menos personalizada.

Desventajas:

- La carga y descarga requiere de una mayor operación de manera personalizada.
- Tiempo de parada entre cargas.
- Coste de operación alto.
- Requiere un control del proceso.
- Uniformidad de producto difícil de conseguir.

3.4.2.2. Semicontinuo (batch alimentado)

Se caracteriza por realizarse en lotes alimentados, con alimentación de entrada. Se alimenta para que el sistema de cultivo tenga un producto con el máximo crecimiento posible y se incremente la productividad.

Este tipo de operación es muy útil cuando se requiere una gran densidad celular en la etapa de iniciación del proceso en la cual hay un alto consumo de nutrientes.

Consiste en remover, al final de la operación entre un 80 y 90 % del cultivo y reemplazarlo por medio fresco.

De esta forma, se puede satisfacer la necesidad de contar con inóculos de gran tamaño sin tener que realizar la esterilización del biorreactor entre dos ciclos. [19]

3.4.2.3. Continuo

En este modo de operación se alimenta una línea de entrada y se drena con una línea de salida. Los flujos de entrada y salida son iguales y la producción es continua. Se utiliza en cultivos donde la velocidad de crecimiento celular es constante, por lo que hay un suministro constante de nutrientes y a la vez una remoción constante de producto. [19]

Ventajas:

- Ideal cuando se requiere una velocidad de crecimiento celular constante.
- Bueno para producciones indefinidas de producto.
- No requiere de tiempo entre ciclos.
- Coste de operación relativamente bajo.
- Uniformidad de producto más fácil de conseguir.

Desventajas:

- Requiere inversión alta.
- Las paradas provocadas por mantenimiento pueden ser costosas.
- Cuesta mantener las condiciones asépticas en el proceso.

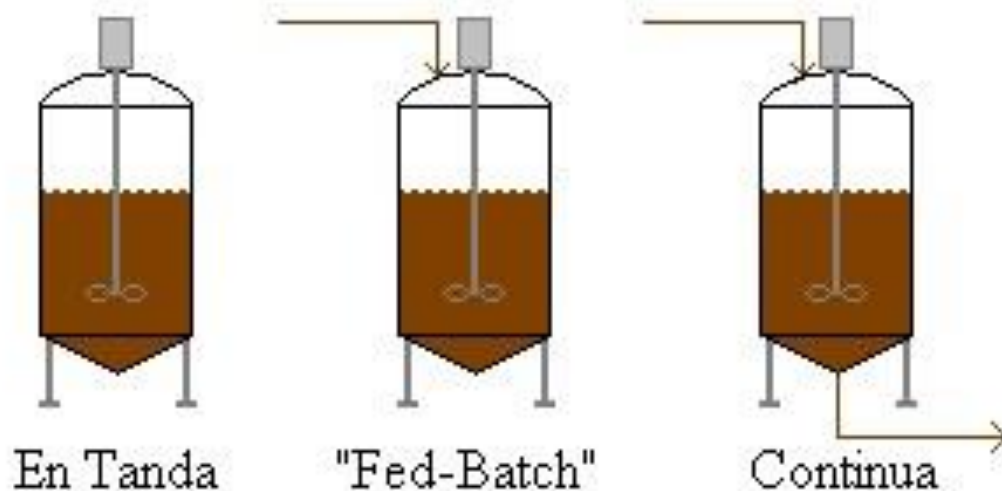


Figura 7: Esquema tipos de biorreactores

3.4.3. Consideraciones de diseño

Para que un microorganismo o célula sea capaz de realizar su función deseada con gran eficiencia son necesarias unas condiciones óptimas. Las condiciones ambientales de un biorreactor tales como flujo de gases (oxígeno, nitrógeno, dióxido de carbono...), temperatura, pH, oxígeno disuelto y velocidad de agitación, deben ser cuidadosamente monitoreadas y controladas. Estos factores físico químicos afectan al rendimiento de las fermentaciones industriales.

3.4.3.1. Temperatura

La temperatura es un parámetro muy importante en la fermentación debido que afecta al funcionamiento de las células. Los organismos se pueden clasificar en tres grupos de acuerdo con su temperatura óptima de crecimiento.

- Serófilos. La temperatura óptima es inferior a los 20°C.
- Mesófilos. La temperatura óptima se encuentra entre los 20°C y los 50°C.
- Termófilos. Temperatura óptima superior a los 50°C.

Durante la fermentación la temperatura se va incrementando hasta llegar a la temperatura de crecimiento óptimo y la velocidad de crecimiento se incrementa aproximadamente el doble por cada 10°C que aumenta la temperatura. Una vez superada la temperatura óptima, la velocidad de crecimiento disminuye y se puede producir muerte celular.

Las temperaturas óptimas para el crecimiento microbiano y formación de producto son diferentes.

El proceso se debe mantener a temperatura constante, para ello se suele utilizar un intercambiador de calor. La fermentación biológica desprende mucho calor, así que en la mayoría de casos se requerirá de agua de enfriamiento. [15][20]

3.4.3.2. pH

El pH en un bioproceso tiene menos efecto sobre la actividad biológica de los microorganismos que la temperatura. La mayor parte de los microorganismos crecen de forma óptima entre pH 5,5 y 8,5. Aun así, el pH es uno de los parámetros que más se tiene que controlar, ya que durante el crecimiento en un fermentador, los metabolitos celulares son liberados al medio, lo que puede originar un cambio de pH del medio de cultivo. Por lo tanto se debe controlar el pH del medio de cultivo y añadir un ácido o una base cuando se necesite para mantener constante el pH. Esta adición del ácido o base se debe mezclar rápidamente de tal forma que el pH del medio de cultivo sea el mismo en todo el fermentador. [15][20]

Los microorganismos se pueden clasificar en tres grupos según su nivel de pH óptimo para el crecimiento. Estos tres grupos son, acidófilos, neutrófilos y alcalófilos. El nivel de pH óptimo para cada grupo lo podemos ver en la figura 8.

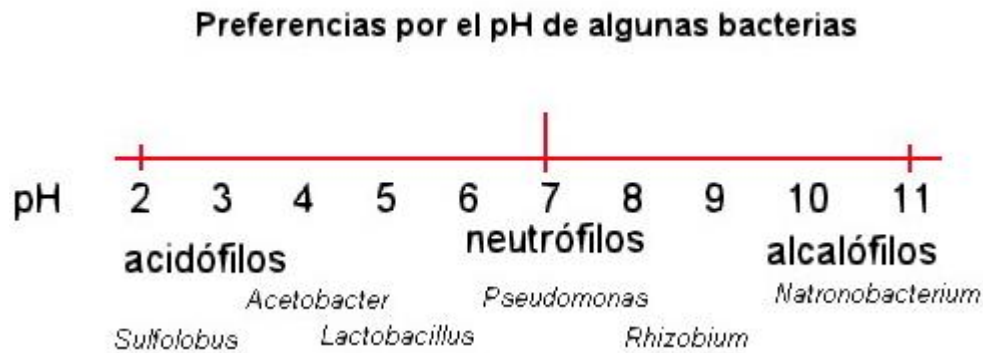


Figura 8: Preferencias por el pH de algunas bacterias [22]

3.4.3.3. Oxígeno disuelto

En los procesos aeróbicos, la transferencia óptima de oxígeno es una tarea difícil de lograr. El oxígeno es el sustrato gaseoso más importante para el metabolismo microbiano y el anhídrido carbónico es el producto metabólico más importante. El oxígeno es poco soluble en agua y es relativamente escaso en el aire (20,8%). Una solución saturada de oxígeno contiene unos 9 mg/L de este gas en agua debido a la influencia de los ingredientes del cultivo, el contenido máximo de oxígeno realmente es más bajo de lo que debería ser en agua pura. El suministro de oxígeno se logra burbujeando aire en el fermentador durante el proceso. La transferencia de oxígeno se facilita por la agitación.

La ley de Henry describe la solubilidad del oxígeno en soluciones de nutrientes en relación a la presión parcial del oxígeno en la fase gaseosa.

Matemáticamente se formula:

$$C_S = H \cdot P_0$$

Ec. 2

Dónde:

C_S : concentración de O_2 de la solución de nutrientes a saturación.

P_0 : presión parcial del gas en la fase gaseosa.

H : constante de Henry que es específica para cada tipo de gas.

La solubilidad del oxígeno desciende a medida que aumenta la temperatura. Al aumentar la concentración de oxígeno en fase gaseosa, se consigue aumentar la proporción de oxígeno en la solución de nutrientes. La presión más alta de oxígeno se consigue durante la aireación con oxígeno puro. En agua se disuelven 43 mg O_2 /L cuando se utiliza oxígeno puro, en comparación con el valor obtenido al utilizar aire que era de 9 mg O_2 /L.

Una vez disuelto el O_2 , éste tiene que transferirse desde la burbuja de gas a cada célula individual. Para ello se deben superar varias resistencias parcialmente independientes. La primera es la resistencia dentro de la película de gas a la interfase. Luego la penetración de la interfase entre la burbuja de gas y el líquido. La transferencia desde la interfase al líquido. Después, movimientos dentro de la solución de nutrientes y por último la transferencia a la superficie de la célula.

La concentración crítica de oxígeno es el término utilizado para expresar el valor de la velocidad específica de absorción de oxígeno que permite la respiración sin impedimentos. Esta concentración crítica de oxígeno suele tener unos valores concretos para cada microorganismo, oscilando de forma general entre el 5% y el 25% de los valores de saturación de oxígeno en los cultivos. [17][20]

3.4.3.4. Agitación

La agitación facilita la transferencia de oxígeno, también facilita la mezcla de los nutrientes y mantiene la fermentación homogénea. Es la operación que crea o que acelera el contacto entre dos o varias fases. Una fermentación microbiana puede ser considerada como un sistema de tres fases, que implica reacciones líquido-sólido, gas-sólido y gas-líquido.

La fase líquida contiene sales disueltas, sustratos y metabolitos. Puede existir, en algunos casos, una segunda fase líquida si existe un sustrato inmiscible en agua como por ejemplo los alcanos.

La fase sólida consiste en células individuales, bolitas de micelio, sustratos insolubles o productos del metabolismo que precipitan.

La fase gaseosa proporciona un reservorio para el suministro de oxígeno, para la eliminación del CO_2 o para el ajuste del pH con amonio gaseoso.

Una adecuada agitación de un cultivo microbiano es esencial para la fermentación ya que produce los siguientes efectos:

- Aumenta el área de transferencia de oxígeno por la formación de pequeñas burbujas.
- Dispersión del aire en la solución de nutrientes.
- Homogeneización, para igualar la temperatura, pH y concentración de nutrientes, en el fermentador.
- Suspensión de los microorganismos y de los nutrientes sólidos.
- Asegura la transferencia de gases

- Dispersión de los líquidos inmiscibles.
- Disminuye el grosor de la interfase gas/líquido al crear un flujo turbulento.

La agitación excesiva puede ser contraproducente, por este motivo existen límites para la velocidad de agitación. Estos límites tienen en cuenta el consumo de energía del motor, el daño ocasionado a los organismos debido a esfuerzos de corte excesivo, que puede romper las células, y el incremento de temperatura que provoca un descenso en la viabilidad celular.

Se debe de llegar a un balance entre la necesidad de mezclado y la necesidad de evitar daño celular.

Existen tres tipos de agitación que se utilizan en las fermentaciones:

- i. Agitadores rotativos (tanque agitado), los cuales tienen un sistema interno mecánico de agitación.
- ii. Columnas de burbujas, la agitación se realiza mediante la introducción de aire a sobrepresión.
- iii. Sistema aero-elevado (airlift), que pueden tener un circuito interno o externo. La mezcla y circulación de los fluidos son el resultado de las corrientes de aire introducido, las cuales causan diferencias en la densidad dentro de las diferentes partes del fermentador.

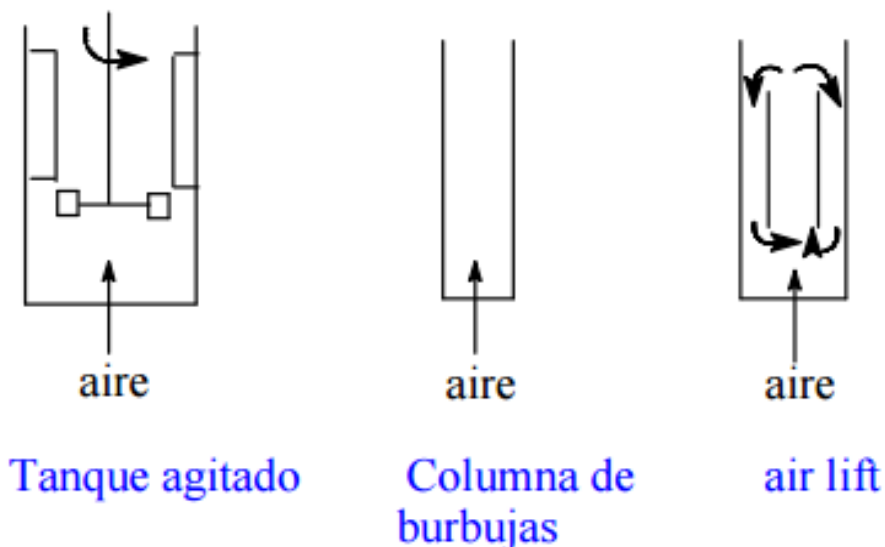


Figura 9: Tipos de agitación en fermentadores [14]

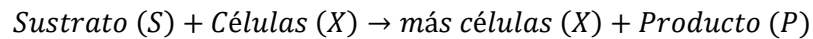
El más utilizado es el primero ya que es más flexible en las condiciones de operación, es más fácil de conseguir comercialmente y provee una eficiente transferencia de gases a las células. [20]

3.4.3.5. Espuma

La espuma se produce a partir de las proteínas presentes en el medio, ligadas a la interfase entre el aire y el cultivo. Se tiene que controlar para que no se pierdan las condiciones asépticas.

3.4.4. Modelos de crecimiento

Para poder describir el fenómeno del crecimiento celular se utilizan ecuaciones relativamente sencillas. La más usada es la ecuación de Monod que describe el crecimiento celular en función de la disponibilidad de un sustrato limitante. Se expresa de la siguiente manera: [26]



Ec. 3

$$r_x = \frac{dX}{dt} = \mu_m \frac{S \cdot X}{K_s + S}$$

Ec. 4

Dónde:

r_x : velocidad de crecimiento de las células

μ_m : velocidad específica máxima de crecimiento

K_s : constante de Monod

También es común expresar la ecuación en función de la velocidad específica de crecimiento:

$$\mu = \frac{\mu_m \cdot S}{K_s + S}$$

Ec. 5

Dónde μ_m es el valor más grande que puede alcanzar la velocidad de crecimiento cuando S es muy superior a K_s y las concentraciones del resto de nutrientes no han cambiado de forma considerable.

K_S es el valor de la concentración del nutriente limitante a la que la velocidad específica de crecimiento es la mitad de la máxima.

Para valores de S inferiores a K_S , la velocidad de crecimiento depende de una forma lineal de S , mientras que para valores superiores, el valor de μ se hace independiente de S .

El uso de la ecuación de Monod plantea un gran inconveniente que es la correcta determinación del valor de K_S .

El modelo de Monod describe solo los periodos de crecimiento exponencial y fase estacionaria.

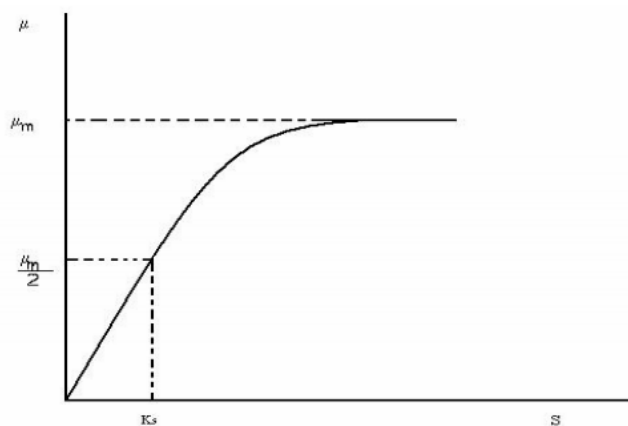


Figura 10: Relación entre la velocidad específica de crecimiento y la concentración de sustrato limitante según la ecuación de Monod [26]

La ecuación de Monod no siempre permite obtener una buena representación de los datos de crecimiento de un microorganismo. Otra ecuación que se utiliza es la ecuación logística. En este modelo se considera que la velocidad de crecimiento de las células sólo depende de la concentración de las células pero incluye además un término de inhibición proporcional al cuadrado de la concentración de la biomasa.

$$\frac{dX}{dt} = kX - \beta X^2$$

Ec. 6

Dónde:

k : término análogo al de la ecuación de Malthus

β : constante del término de inhibición

Durante el crecimiento microbiano, se pueden diferenciar 4 fases: [23][24][25]

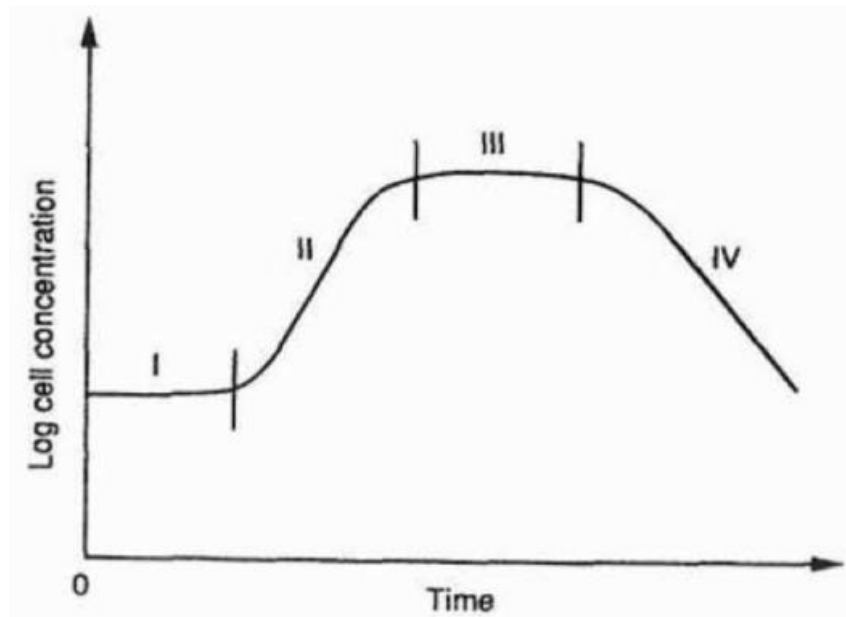


Figura 11: Fases del crecimiento celular [16]

Fase I: Fase de latencia. También conocida como fase lag o de adaptación, durante esta fase no hay crecimiento microbiano aunque hay metabolismo activo. Se producen las enzimas necesarias para que la población bacteriana pueda crecer. Es una fase de adaptación al medio.

Fase II: Fase exponencial. Durante esta fase hay una duplicación celular de manera acelerada. Bajo condiciones apropiadas la velocidad de crecimiento es máxima. Al tiempo en que una célula se duplica se le conoce como tiempo de duplicación o regeneración.

Fase III: Fase estacionaria. Durante esta fase la velocidad de división celular decrece hasta tal punto que las nuevas células son producidas al mismo ritmo de al que mueren las células viejas. Por lo tanto, el número de células es constante.

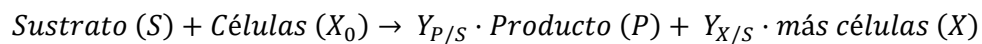
Fase IV: Fase de muerte celular. Durante esta fase ya no es posible la división celular, las células mueren y la población decrece exponencialmente. Esto se debe por la acumulación de tóxicos en el medio o la falta de sustrato.

3.4.5. Parámetros de rendimiento

El rendimiento se define como la relación entre el producto obtenido y el sustrato consumido. El rendimiento celular se define a través del concepto de nutriente limitante.

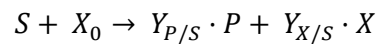
Un nutriente limitante es aquel sustrato que cuyo consumo controla la velocidad de producción de biomasa. Es decir que la velocidad de crecimiento celular es función de tal nutriente. [26]

Podemos escribir la ecuación 3 de forma:



Ec. 7

Simplificando:



Ec. 7

El rendimiento de biomasa, que se refiere a la biomasa producida entre el consumo del sustrato, se define como:

$$Y_{X/S} = \frac{dX}{dS}$$

Ec. 8

También se puede expresar como:

$$Y_{X/S} = \frac{\text{Biomasa Producida}}{\text{Consumo Sustrato}}$$

Ec. 9

El sustrato normalmente es la fuente de carbono. El rendimiento está en función de la fuente de carbono usada y las condiciones del proceso. Puede variar durante el proceso.

También está el rendimiento de la formación de producto, que se refiere al producto producido entre el consumo de sustrato, se define como:

$$Y_{P/S} = \frac{dP}{dS}$$

Ec. 10

También se puede expresar como:

$$Y_{P/S} = \frac{\text{Producto producido}}{\text{Consumo sustrato}}$$

Ec. 11

Una vez definidos estos parámetros, podemos definir la velocidad de desaparición del sustrato en función del rendimiento de biomasa y la velocidad de crecimiento de las células:

$$r_S = -\left(\frac{1}{Y_{X/S}}\right) \cdot r_X$$

Ec. 12

Dónde:

r_S : velocidad de desaparición del sustrato

$Y_{X/S}$: rendimiento de biomasa

r_X : velocidad de crecimiento de las células

También podemos definir la velocidad de desaparición del sustrato en función del rendimiento del producto y la velocidad de desaparición del producto:

$$r_S = -\left(\frac{1}{Y_{P/S}}\right) \cdot r_P$$

Ec. 13

Dónde:

r_S : velocidad de desaparición del sustrato

$Y_{P/S}$: rendimiento de formación del producto

r_P : velocidad de aparición del producto

La velocidad de aparición del producto se puede obtener de forma:

$$r_P = \frac{Y_{P/S}}{Y_{X/S}} \cdot r_X$$

Ec. 14

En general, el rendimiento de biomasa y el rendimiento de producto se consideran constantes.

A partir de los rendimientos, se puede definir la evolución temporal del sustrato, el producto y las células a partir de las siguientes ecuaciones.

La cantidad de sustrato en un instante determinado se define como:

$$S = S_0 - \left(\frac{1}{Y_{X/S}} \right) \cdot (C - C_0)$$

Ec. 15

La cantidad de células en un instante determinado se puede definir como:

$$X = X_0 + Y_{X/S} \cdot (S_0 - S)$$

Ec. 16

La cantidad de producto en un instante determinado se define como:

$$P = P_0 + Y_{P/S} \cdot (S_0 - S)$$

Ec. 17

Ya que en el instante inicial no hay producto:

$$P = Y_{P/S} \cdot (S_0 - S)$$

Ec. 18

Si se dibujan las curvas de la evolución temporal del sustrato, células y producto. Queda como en la siguiente gráfica.

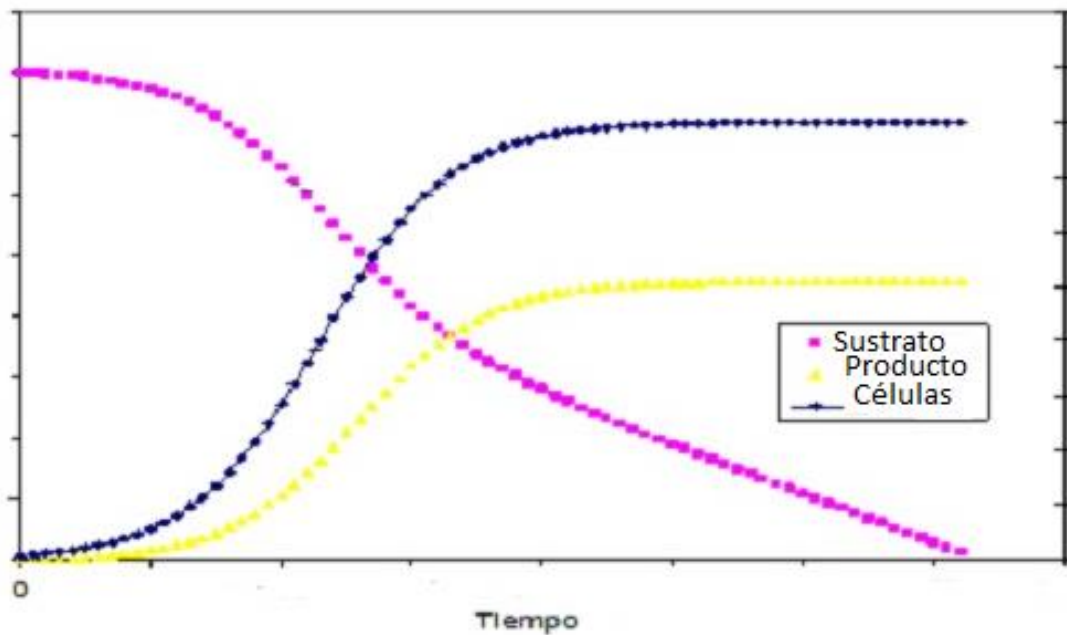


Figura 12: Evolución temporal del sustrato, células y producto

Inicialmente, únicamente tenemos sustrato y muy poca cantidad de células. Según avanza el tiempo, la cantidad de sustrato disminuye y el producto y las células aumentan de forma exponencial. A partir de un tiempo determinado, la cantidad de producto y células ya no crece de forma considerable y se estabiliza.

Observamos que la concentración de sustrato disminuye a lo largo del tiempo. Por el contrario, la cantidad de células y de producto aumenta con el paso del tiempo.

3.4.6. Criterios para el diseño

1. Tener caracterizado morfológica y bioquímicamente el cultivo a usar.
2. Características hidrodinámicas del reactor: es necesario minimizar los fenómenos de transporte en el reactor, para evitar gradientes de nutriente, temperatura.
3. La productividad bacteriana debe estar ampliamente estudiada.
4. Asegurar la estabilidad genética del microorganismo, impidiendo que se estimulen mutaciones.
5. Esterilización lo más barata posible, hasta el punto que, a pesar de su importancia, y según el proceso, se llega a obviar.
6. Control de las condiciones ambientales.
7. Construcción y modo de operación.
8. Inclusión de sistemas de oxigenación adecuados a las exigencias del microorganismo.
9. Sistemas de muestreo para determinar las condiciones internas del biorreactor.
10. Materiales no tóxicos.

4. Materiales y equipo

Este trabajo consiste en el diseño de un biorreactor de forma teórica, por este motivo, no se ha usado equipo de laboratorio.

Las fuentes de información que se han consultado han sido estudios científicos, apuntes de asignaturas tanto impartidas en esta escuela como en otras universidades, libros científicos y, también, varias páginas web.

Para realizar el dibujo de los planos se ha utilizado el programa SolidWorks®.

5. Resultados

5.1. Condiciones de la fermentación

Después de haber realizado una primera parte de búsqueda bibliográfica y de presentar la teoría del trabajo, ahora se presentaran los resultados para el diseño del biorreactor.

Finalmente se ha escogido el estudio realizado por Kotera, Umehara, Kodama y Yamada en 1972. Se utilizará la bacteria *Acet. suboxydans* var. α IFO 3256. [10]

Se ha escogido este estudio en concreto ya que se utiliza una bacteria tipo *Acetobacter* que es muy interesante de utilizar ya que el coste no es muy elevado y además el medio en el cual se produce la fermentación es de glucosa cosa que también propicia que el coste de la fermentación no sea elevado.

En el siguiente esquema (figura 13) se puede observar el procedimiento para la formación del ácido L (+) – tartárico a partir de glucosa.

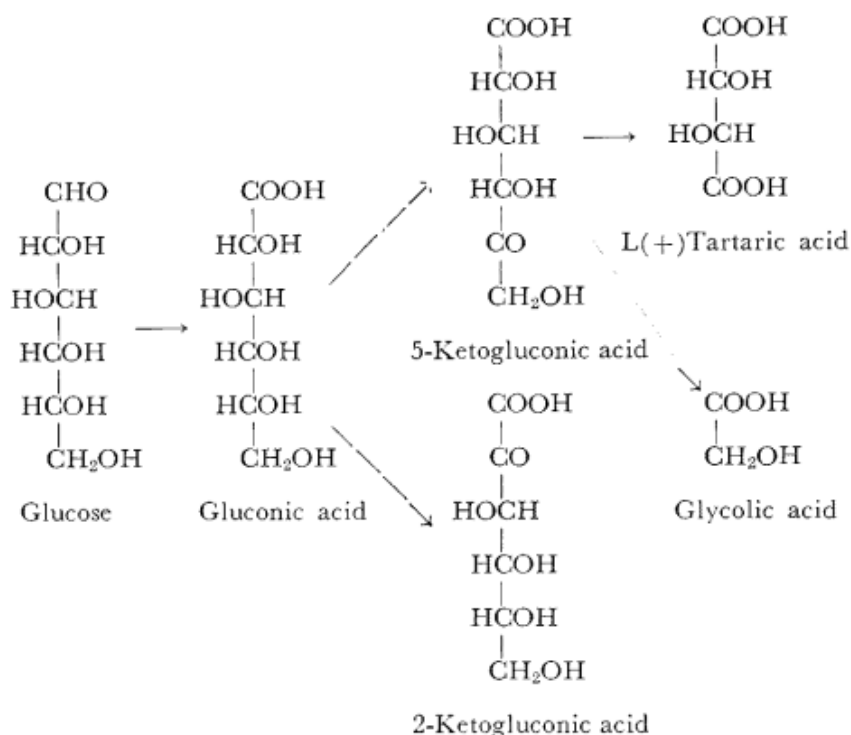


Figura 13: Camino a seguir para obtener ácido L (+) – Tartárico a partir de glucosa [9]

Para la fermentación se utilizarán dos medios, uno será un medio de cultivo inicial Y, y posteriormente el medio donde se realizará la fermentación de 6 días que será el medio de glucosa.

En la figura 14 podemos observar que contiene cada medio.

Y medium		Glucose-CSL Medium	
Mannitol	25 g	Glucose	50 g
Yeast extract	1	CSL	3
Agar	20	NH ₄ Cl	1.5
Distilled W.	1 liter	KH ₂ PO ₄	1
		MgSO ₄ 7aq	0.25
		MnSO ₄ 5aq	0.048
		NH ₄ VO ₃	0.1
		CaCO ₃	10
		Distilled W.	1 liter

Figura 14: Medio de cultivo y medio de fermentación [10]

Usando este método de obtención de ácido tartárico se puede obtener 6,3 g/L en fermentaciones de 6 días de duración. [10]

El objetivo del proyecto es poder producir 75 kg / año de ácido tartárico.

5.1.1. Temperatura

En distintos estudios realizados por los mismos autores del estudio finalmente escogido, se realizan pruebas en distintas condiciones para buscar cuales son las óptimas. En todos los estudios se puede sacar algo en común, que es la temperatura, normalmente fijada a 26°C.

Por lo tanto, durante la fermentación, tendrá que haber una temperatura fija de 26°C, dando por bueno un rango de validez de 7°C, por lo tanto se considerará como correcto que la temperatura de la fermentación oscile entre los 22°C y los 29°C, aproximadamente.

Durante la esterilización se tendrá que llegar a temperaturas muy superiores a las de trabajo. La temperatura de esterilización es de 121°C.

5.1.2. pH

Antes de la esterilización del medio, se ajusta un nivel de pH 6. La fermentación se llevará a cabo a un nivel medio de pH 3 en que se produce la mayor cantidad de ácido tartárico. Se dará un rango de validez del pH que oscilará entre 2,5 y 3,2.

5.1.3. Oxígeno disuelto

Como en todas las reacciones de fermentación aeróbicas es necesaria la presencia de un nivel adecuado de oxígeno disuelto para poder mejorar el rendimiento de la operación. Los niveles de oxígeno tienen que ser los óptimos para garantizar el máximo de crecimiento celular, pero sin sobrepasarlos, ya que podría afectar de forma negativa al crecimiento celular.

En los estudios analizados en que se basa este trabajo no se mencionan conceptos de aireación ni de aportación de oxígeno. Aun así, según el libro *Principles of Fermentation Technology* [27] la concentración óptima de oxígeno para una fermentación es de 1 vvm.

Por lo tanto se ha escogido una concentración de oxígeno de 1 vvm.

5.1.4. Agitación

La agitación es esencial en el proceso de fermentación para facilitar la transferencia de oxígeno y que se mantenga la fermentación homogénea.

En los estudios analizados, la agitación se produce con un movimiento alternativo. Se dan dos valores, uno de 275 recorridos de 20 mm por minuto y otro de 128 recorridos de 70 mm por minuto.

En fermentaciones biológicas, según el libro *Principles of Fermentation Technology* [27], los valores óptimos de agitación se encuentran entre 300 rpm y 500 rpm.

Ya que la agitación en el biorreactor diseñado será rotatoria, se ha escogido que el valor de la agitación será de 400 rpm.

5.1.5. Cultivo

Según el estudio escogido de Kotera, Umehara, Kodama y Yamada, se utilizará la bacteria *Acet. suboxydans* var. α IFO 3256. [10]

Esta variante de la bacteria se comprará a una empresa externa, así que no tenemos que preocuparnos por cómo obtener esta variante en concreto.

Esta bacteria se cultivará en un medio formado por:

Mannitol	25 g
Yeast extract	1
Agar	20
Distilled W.	1 liter

Figura 15: Medio de cultivo [10]

Se cultivarán en serie de crecimiento durante 2 días en un recipiente inclinado.

El proceso de cultivo será:

- Se prepara el inóculo durante 16 horas a 26°C en el medio de Manitol
- Incubación durante 8 horas en el medio de Manitol
- Incubación durante 2 días en el medio de glucosa a pH 6

Posteriormente se producirá la fermentación en el medio de Glucosa-CSL definido en la figura 16 durante 6 días.

Glucose-CSL Medium	
Glucose	50 g
CSL	3
NH ₄ Cl	1.5
KH ₂ PO ₄	1
MgSO ₄ 7aq	0.25
MnSO ₄ 5aq	0.048
NH ₄ VO ₃	0.1
CaCO ₃	10
Distilled W.	1 liter

Figura 16: Medio de Glucosa-CSL [10]

5.2. Selección del fermentador

Después de haber analizado los tipos de biorreactores que existen y los diferentes modos de operación, para realizar el diseño del reactor que producirá ácido tartárico se ha considerado que la alternativa de un biorreactor tipo batch (discontinuo) es la mejor opción.

El biorreactor que se diseñará está pensado para trabajar a nivel de planta piloto. No tendrá una producción elevada, por lo que no será necesaria una producción continua.

Este fermentador, además de las características explicadas anteriormente, se considera el adecuado para este tipo de fermentación porque:

- Sus necesidades energéticas son mínimas.
- No es necesario disponer de intercambiadores de calor muy potentes.
- Es fácil de diseñar y adaptar a otras fermentaciones.
- Las alimentaciones y las recogidas de producto son fáciles.
- Su tamaño es limitado y cabe en muchos laboratorios de investigación y desarrollo.
- Los resultados se adaptan bien a las previsiones teóricas.
- Es ideal para pequeños volúmenes de producción.

5.2.1. Características del fermentador tipo batch

Se trabajará por lotes sin un flujo de entrada o salida. [28]

Primero de todo, estos reactores se caracterizan por:

$$m_{entrada} = 0$$

$$m_{salida} = 0$$

El balance de masa será, por tanto:

$$\frac{dm}{dt} = \dot{m}_{rxn}$$

Ec. 19

$$V \frac{dC}{dt} = \dot{m}_{rxn}$$

Ec. 20

Simplificando:

$$\frac{dC}{dt} = (\pm r_n)$$

Ec. 21

En este tipo de reactores, la variación de concentración a lo largo del tiempo es el resultado de una reacción química. Según el estudio de Willaert y De Vuyst [12], la producción de ácido tartárico se puede considerar como una reacción de primer orden de consumo de sustrato, de forma $r = -kC$. Así, la ecuación quedará de forma:

$$\frac{dC}{dt} = -kC$$

Ec. 22

o también se puede expresar de forma:

$$\frac{C}{C_0} = e^{-kt}$$

Ec. 23

La ecuación anterior indica que el sustrato disminuye exponencialmente con el tiempo en relación con el sustrato inicial.

Por relaciones estequiométricas o de rendimientos biológicos se deduce que la formación de ácido tartárico será:

$$C_T = Y_{T/S} \cdot C_{S0} \cdot (1 - \exp(-k \cdot t))$$

Ec. 24

Esta igualdad indica que una producción alta de ácido tartárico se conseguirá con tiempos de reacción elevados, hasta un máximo asintótico igual a $Y_{T/S} \cdot C_{S0}$.

Por lo tanto la variable esencial para un reactor por lotes será el tiempo, lo que lo hace especialmente sencillo de trabajar y a la vez fácil de controlar los distintos parámetros que controlan la reacción.

A continuación, se plantea el balance de masa de otra forma:

$$\left(\begin{matrix} \text{Tasa de materia} \\ \text{acumulada} \end{matrix} \right) = \left(\begin{matrix} \text{Tasa de materia} \\ \text{entrante} \end{matrix} \right) - \left(\begin{matrix} \text{Tasa de materia} \\ \text{saliente} \end{matrix} \right) \pm \left(\begin{matrix} \text{Tasa de materia} \\ \text{reaccionante} \end{matrix} \right)$$

Ec. 25

Ya que en este tipo de reactores no hay flujo de entrada ni de salida, teniendo en cuenta la ecuación 25, podemos simplificar de forma:

$$\left(\begin{matrix} \text{Tasa de materia} \\ \text{acumulada} \end{matrix} \right) = \left(\begin{matrix} \text{Tasa de materia} \\ \text{entrante} \end{matrix} \right) - \left(\begin{matrix} \text{Tasa de materia} \\ \text{saliente} \end{matrix} \right) \pm \left(\begin{matrix} \text{Tasa de materia} \\ \text{reaccionante} \end{matrix} \right)$$

Ec. 26

Sustituyendo en la ecuación anterior, obtenemos:

$$V \frac{dC}{dt} = 0 - 0 - kC^n V$$

Ec. 27

Dónde:

V: Volumen del reactor

k: asociada a la constante de remoción de materia orgánica

C: concentración de materia orgánica

n: cinética de la ecuación

Según el estudio de Willaert y De Vuyst [12], la reacción para la obtención de ácido tartárico se puede considerar como una cinética de primer orden (n=1). La ecuación queda de la siguiente manera:

$$\int_{C_0}^C \frac{dC}{C} = -k \int_0^t dt$$

Ec. 28

Haciendo la integral definida indicada en la ecuación 28, obtenemos la siguiente ecuación:

$$\ln \frac{C}{C_0} = -kt$$

Ec. 29

Esta ecuación también se puede expresar como:

$$C = C_0 e^{-kt}$$

Ec.30

Si graficamos las ecuaciones 29 y 30 considerando una cinética de primer orden, obtenemos:

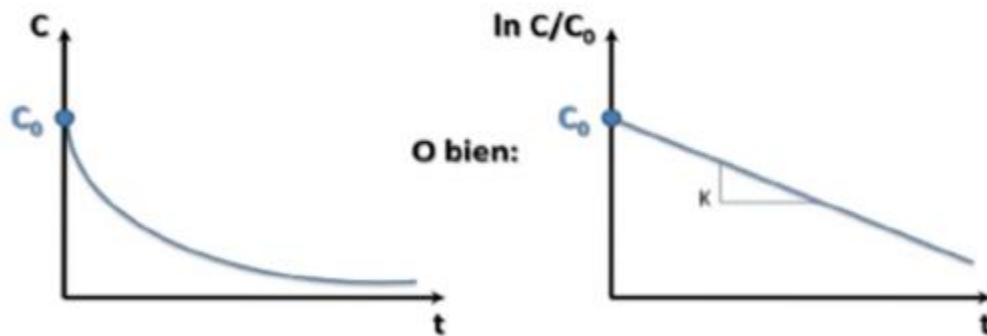


Figura 17: Degradación de la concentración en función del tiempo [28]

Como en nuestro caso no disponemos de las constantes cinéticas de la fermentación, no es posible dibujar los perfiles de la reacción de los reactivos y los productos. Nuestro dato esencial, proporcionado por el estudio de Kotera, Umehara, Kodama y Yamada es que la producción después de 6 días de fermentación es de 6,3 g/L.

5.3. Parámetros de diseño

Como ya se ha comentado, después de analizar los diferentes estudios publicados sobre la obtención de ácido tartárico, se ha comprobado que la mejor alternativa para producir ácido tartárico es a partir de la bacteria *Acet. suboxydans* var. α IFO 3256 según el estudio de Kotera, Umehara, Kodama y Yamada. [10]

A continuación se detallaran las propiedades necesarias para poder realizar el diseño del biorreactor.

5.3.1. Capacidad de producción

Según el objetivo definido al principio del trabajo, se ha establecido una necesidad de producir 75 kg/año de ácido tartárico. Como ya se ha mencionado, el dimensionado del reactor será a nivel de planta piloto.

Teniendo en cuenta que la planta piloto trabajará 45 semanas al año, habrá una producción semanal de:

$$P_{semanal} = 75 \frac{kg AT}{año} \cdot \frac{1 año}{45 semanas} = 1,6667 \frac{kg AT}{semana}$$

Teniendo en cuenta que una fermentación dura 6 días, según lo descrito en el estudio en que se basa este diseño. Por lo que se puede considerar que se realizará una fermentación por semana, así:

$$P_{por fermentación} = 1,6667 \frac{kg AT}{semana} \cdot \frac{1 semana}{1 fermentación} = 1,6667 \frac{kg AT}{fermentación}$$

5.3.2. Parámetros de forma

Para cada tipo de reactor, los parámetros de forma varían. Según el tipo escogido, reactor discontinuo tipo batch, existe una relación de los parámetros de forma que se tienen que seguir para realizar el diseño. En la siguiente tabla, se recogen las relaciones dimensionales que debe cumplir el reactor. Usando la siguiente nomenclatura:

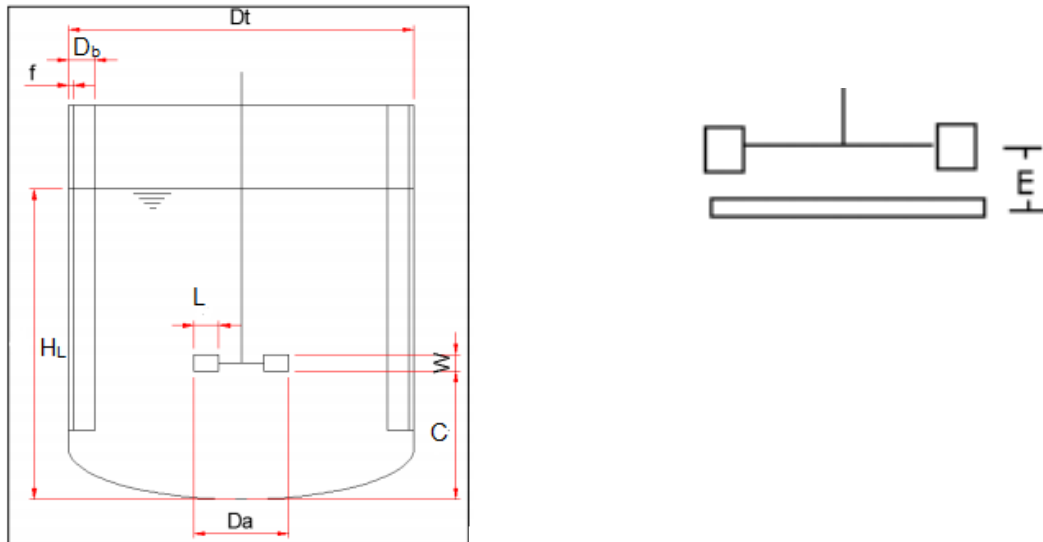


Figura 18: Parámetros de forma del reactor [29]

Relación	Relación	Valores típicos	Valor escogido
Altura del líquido del reactor en relación con la altura del reactor	H_L / H_t	0,7 – 0,8	0,7
Altura del reactor en relación con el diámetro del tanque	H_t / D_t	1 – 2	1,5
Diámetro de la turbina en relación al diámetro del tanque	D_a / D_t	0.3 – 0.5	0,333
Diámetro de los deflectores en relación al diámetro del tanque	D_b / D_t	0,08 – 0,1	0,083
Altura de la hoja de la turbina en relación al diámetro de la turbina	W / D_a	0,2	0,2
Anchura de la hoja de la turbina en relación al diámetro de la turbina	L / D_a	0,25	0,25
Distancia de la anilla de aireación al medio de la turbina	E / W	1	1
Distancia entre turbina en relación a la base del reactor	C / D_t	0,333	0,333
Distancia entre la pared del reactor y el deflector en relación al diámetro del reactor	f / D_t	0,02	0,02

Tabla 8: Relaciones geométricas de los parámetros de forma del reactor [29]

5.3.3. Volumen

A partir de los datos obtenidos de producción semanal y por fermentación, podremos calcular el volumen de trabajo de nuestro reactor.

Según el estudio de Kotera, Umehara, Kodama y Yamada, la producción es de 6,3 g ácido tartárico por litro. Por lo tanto:

$$V_u = 75 \frac{kg \text{ AT}}{\text{año}} \cdot \frac{1 \text{ año}}{45 \text{ semanas}} \cdot \frac{1 \text{ semana}}{1 \text{ fermentación}} \cdot \frac{1 \text{ fermentación}}{6,3 \text{ g/L}} \cdot \frac{1000g}{1 \text{ kg}} = 264,55 \text{ L}$$

Este volumen de 264,55 L es el volumen útil del reactor, teniendo en cuenta que el volumen útil representa el 70 % del volumen total del reactor:

$$V_{Total} = \frac{V_{util}}{0,7}$$

Ec. 31

$$V_{Total} = \frac{264,55 \text{ L}}{0,7} = 377,93 \text{ L}$$

Para facilitar el diseño se considerará un volumen total de 380 L. A partir de este valor, se hará el diseño definitivo del reactor

5.3.4. Geometría

La geometría del reactor será cilíndrica con dos cúpulas iguales, una superior y una inferior, con 4 patas de soporte para elevar el reactor del suelo.

Utilizando la relación entre la altura y el diámetro del reactor:

$$\frac{H}{D} = 1,5$$

Ec. 32

y la ecuación para calcular el volumen de la parte cilíndrica del reactor:

$$V_{cilindro} = \frac{\pi}{4} \cdot D^2 \cdot H$$

Ec. 33

Para calcular el volumen de la cúpula usaremos la ecuación [36]:

$$V_{Cúpula} = \frac{\pi}{6} \cdot h \cdot (3 R^2 + h^2)$$

Ec. 34

Con:

$$R = \frac{D}{2}$$

Ec. 35

El volumen total del reactor será:

$$V_{Total} = V_{cilindro} + 2 \cdot V_{Cúpula}$$

Ec. 36

Sustituyendo en la ecuación anterior, obtenemos:

$$V_T = \frac{\pi}{4} \cdot D^2 \cdot H + 2 \cdot \frac{\pi}{6} \cdot h \cdot (3 R^2 + h^2)$$

Ec. 37

Dejando el volumen total del reactor en función únicamente de la altura de la parte cilíndrica:

$$V_T = \frac{\pi}{4} \cdot \left(\frac{2 \cdot H}{3}\right)^2 \cdot H + 2 \cdot \frac{\pi}{6} \cdot h \cdot \left(3 \left(\frac{H}{3}\right)^2 + h^2\right)$$

Ec. 38

Fijando la altura de la cúpula a 12 cm, tendremos:

$$h = 0,120 \text{ m}$$

la ecuación del cálculo del volumen total quedará:

$$0,38 = \frac{\pi}{4} \cdot \left(\frac{2 \cdot H}{3}\right)^2 \cdot H + 2 \cdot \frac{\pi}{6} \cdot 0,12 \cdot \left(3 \left(\frac{H}{3}\right)^2 + 0,12^2\right)$$

Ec. 38

Resolviendo la ecuación anterior obtenemos un valor de altura del cilindro del reactor de:

$$H = 0,9886 \approx 0,990 \text{ m}$$

El diámetro tendrá un valor de:

$$D = 0,6591 \approx 0,660 \text{ m}$$

Con los valores definitivos que se usaran para el diseño del reactor:

$$H = 0,990 \text{ m}$$

$$D = 0,660 \text{ m}$$

$$h = 0,120 \text{ m}$$

El valor del volumen total final del reactor será:

$$V_{Real} = 0,382 \text{ m}^3$$

5.3.5. Agitación

La agitación es uno de los puntos que tiene mayor importancia a la hora de diseñar el reactor, ya que es la encargada de que haya una mezcla homogénea en todo el tanque y el rendimiento de la reacción sea máximo.

Se ha escogido la turbina Rushton de 6 palas, ya que es típica para reactores microbianos.

Para el diseño del sistema de agitación se tendrán en cuenta las proporciones definidas en la tabla 8.

En los reactores que se usa la turbina Rushton se utiliza una relación entre el diámetro de la turbina y el diámetro del tanque de 0,333.

Por lo tanto, tenemos:

$$\frac{D_a}{D_t} = 0,333$$

Ec. 39

Sustituyendo:

$$D_a = 0,333 \cdot D_t$$

Ec. 40

$$D_a = 0,333 \cdot 0,660 = 0,220 \text{ m}$$

Una vez conocido el valor del diámetro de la turbina, se calculará la altura de la hoja de la turbina:

$$\frac{W}{D_a} = 0,2$$

Ec. 41

Sustituyendo:

$$W = 0,2 \cdot D_a$$

Ec. 42

$$W = 0,2 \cdot 0,220 = 0,044 \text{ m}$$

La anchura de la hoja de la turbina será de:

$$\frac{L}{D_a} = 0,25$$

Ec. 43

Por lo tanto:

$$L = 0,25 \cdot D_a$$

Ec. 44

$$L = 0,25 \cdot 0,220 = 0,055 \text{ m}$$

La distancia entre el agitador y la base del biorreactor se calculará con la relación:

$$\frac{C}{D_t} = 0,333$$

Ec. 45

Sustituyendo:

$$C = 0,333 \cdot D_t$$

Ec. 46

$$C = 0,3333 \cdot 0,66 = 0,220 \text{ m}$$

Para calcular distancia entre la anilla de aportación de oxígeno y la turbina usaremos:

$$\frac{E}{W} = 1$$

Ec. 47

Sustituyendo:

$$E = W = 0,044 \text{ m}$$

La altura útil del agitador viene dada por la fórmula:

$$S = \frac{2 \cdot D_t}{3}$$

Ec. 48

$$S = \frac{2 \cdot 0,66}{3} = 0,440 \text{ m}$$

Por lo tanto se usaran 3 agitadores, 2 de ellos cubiertos por la altura del líquido y uno de ellos en la parte superior del líquido para romper la espuma que se forma.

Las dos turbinas cubiertas por el líquido estarán separadas una distancia de 0,300 m.

La tercera turbina estará situada a una distancia de 0,900 m de la base del biorreactor.

5.3.6. Motor

Para que la agitación sea eficaz, el volumen del fluido agitado ha de llegar hasta las paredes más lejanas del reactor, donde la turbulencia del fluido es uno de los factores clave para que la operación sea eficiente. La turbulencia se debe a que las corrientes estén adecuadamente dirigidas y puedan generar grandes gradientes de velocidad del líquido.

A fin de llevarlo a cabo, debemos conocer la potencia necesaria a fin de cumplir estos objetivos.

Esta potencia se puede conocer a través de números adimensionales como son el número de Reynolds y el número de potencia.

El número de Reynolds nos permite caracterizar el movimiento del fluido. Es una expresión adimensional y relaciona la dimensión típica de un flujo, la densidad, la

viscosidad y la velocidad. Para conocer el número de Reynolds usaremos la siguiente fórmula:

$$Re = \frac{n \cdot D_a^2 \cdot \rho}{\mu}$$

Ec. 49

Dónde:

n : velocidad de rotación del agitador en rps

D_a : diámetro de la turbina en m

ρ : densidad del líquido en kg/m^3

μ : viscosidad del líquido en $Pa \cdot s$

Ajustando las propiedades del líquido como las del agua y usando los valores especificados anteriormente.

$$n = \frac{rpm}{60} = \frac{400}{60} = 6,667 \text{ rps}$$

$$n = 6,667 \text{ rps} ; D_a = 0,220 \text{ m} ; \rho = 1000 \text{ kg/m}^3 ; \mu = 0,001 \text{ Pa} \cdot s$$

Sustituyendo en la ecuación 49, tenemos:

$$Re = \frac{n \cdot D_a^2 \cdot \rho}{\mu} = \frac{6,667 \cdot 0,220^2 \cdot 1000}{0,001} = 322683$$

Con este valor, podemos comprobar que estamos ante un régimen turbulento.

El número de potencia es proporcional a la relación entre la fuerza de rozamiento que actúa sobre una unidad de área de impulsor y la fuerza de inercia. En el caso de régimen turbulento el número de potencia tiene relación constante.

Con la siguiente fórmula:

$$N_{po} = \frac{P}{\rho \cdot n^3 \cdot D_a^5}$$

Ec. 50

Dónde:

P = potencia necesaria para la agitación

n: velocidad de rotación del agitador en *rps*

D_a: diámetro de la turbina en *m*

ρ: densidad del líquido en *kg/m³*

En el caso de que estemos en régimen turbulento y el reactor contenga placas deflectoras, el N_p es independiente el número de Reynolds y la viscosidad no influye.

La potencia se puede obtener a partir de la siguiente ecuación:

$$P = KT \cdot n^3 \cdot D_a^5 \cdot \rho$$

Ec. 51

Dónde:

P = potencia necesaria para la agitación

KT = constante

n: velocidad de rotación del agitador en *rps*

D_a: diámetro de la turbina en *m*

ρ: densidad del líquido en *kg/m³*

El valor de KT se obtiene de la tabla 9 en la que se indica la constante KT para el cálculo de la potencia según el tipo de impulsor.

Tipo de impulsor	KL	KT
Hélice paso cuadrado, tres palas	41,0	0,32
Hélice paso de 2, tres palas	43,5	1,00
Turbina, seis palas planas	71,0	6,30
Turbina, seis palas curvas	70,0	4,80
Turbina de ventilador, seis palas	70,0	1,65
Turbina dos palas planas	36,5	1,70
Turbina cerrada, seis palas curvas	97,2	1,08

Tabla 9: Constantes KL y KT para el cálculo de potencia [29]

En nuestro caso, estamos ante una turbina de seis palas planas, por lo que el valor de K_T será de 6,3.

Sustituyendo, obtenemos:

$$P_1 = 6,3 \cdot 6,667^3 \cdot 0,220^5 \cdot 1000 = 962 \text{ W}$$

Otra forma de calcular la potencia necesaria para la agitación es usando la ecuación 50.

Con la ayuda de la figura 19, en la que se grafica el número de potencia en relación al número de Reynolds, se puede estimar la potencia para un agitador de turbina de 6 placas planas y reactor con placas deflectoras. Con la ayuda de las siguientes relaciones de forma:

$$S_1 = \frac{D_a}{D_t} ; S_2 = \frac{C}{D_a} ; S_3 = \frac{L}{D_a} ; S_4 = \frac{h}{D_a} ; S_5 = \frac{W}{D_t} ; S_6 = \frac{H}{D_t}$$

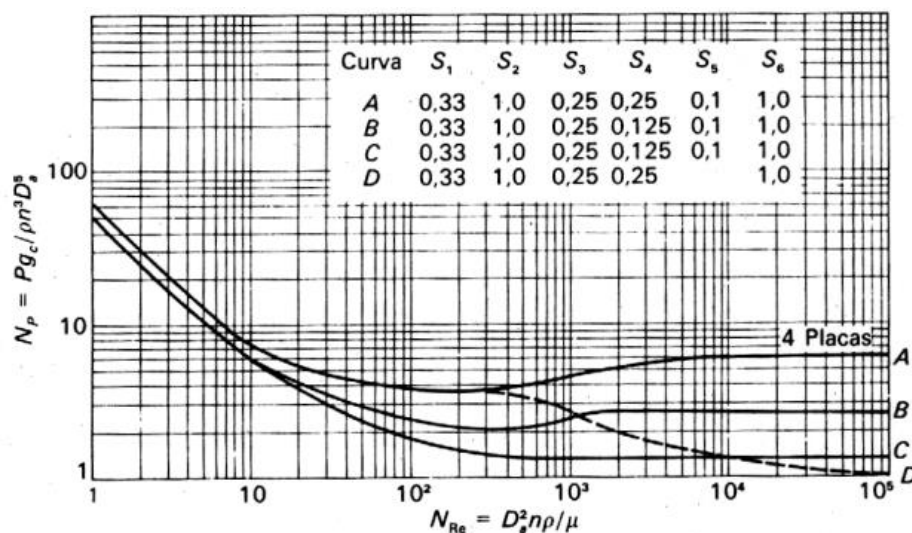


Figura 19: Número de potencia frente a número de Reynolds para turbina de 6 palas [29]

En nuestro caso, siguiendo la curva A y con un número de Reynolds de:

$$Re = 3,2 \cdot 10^5$$

Obtenemos un número de potencia de:

$$N_p = 7$$

Sustituyendo en la ecuación 52, tenemos:

$$P_2 = N_p \cdot n^3 \cdot D_a^5 \cdot \rho$$

Ec. 52

$$P_2 = 7 \cdot 6,667^3 \cdot 0,220^5 \cdot 1000 = 1069 \text{ W}$$

Según los dos métodos utilizados para calcular la potencia que utilizará una turbina en el sistema de agitación, hemos obtenido los siguientes valores:

$$P_1 = 962 \text{ W}$$

$$P_2 = 1069 \text{ W}$$

Ya que en el reactor diseñado se utilizarán tres turbinas pero solo dos de ellas estarán sumergidas en el líquido, entre las dos turbinas se utilizarán:

$$P_u = 2 \cdot P$$

Por lo tanto:

$$P_{u1} = 2 \cdot 962 = 1924 \text{ W}$$

$$P_{u2} = 2 \cdot 1069 = 2138 \text{ W}$$

Teniendo en cuenta que habrá una tercera turbina, pero al no estar en contacto con el fluido necesitará mucha menos potencia, ya que su finalidad será romper la espuma que aparezca. Por este motivo no se va a considerar importante la demanda de potencia de esta tercera turbina. Se cogerá como referencia de potencia utilizada el valor calculado de 2138 W redondeado a 2200 W por la presencia de la tercera turbina.

Teniendo en cuenta un rendimiento del motor de 70 %, se procederá a calcular cuanta potencia se consumirá de la red eléctrica:

$$P_c = \frac{P_u}{\eta}$$

Ec. 53

Sustituyendo en la ecuación anterior, obtenemos:

$$P_c = \frac{2200}{0,7} = 3143 \text{ W}$$

Por lo tanto, para el sistema de agitación y tomando el valor de 3143 W como referencia y dejando un margen para poder desarrollar esta potencia sin problemas, se usará un motor de 3,5 kW.

5.3.7. Deflectores

Para completar el sistema de agitación se añadirán deflectores para romper el movimiento circular que generan las paletas del agitador y así generar mayor turbulencia y mejor mezclado.

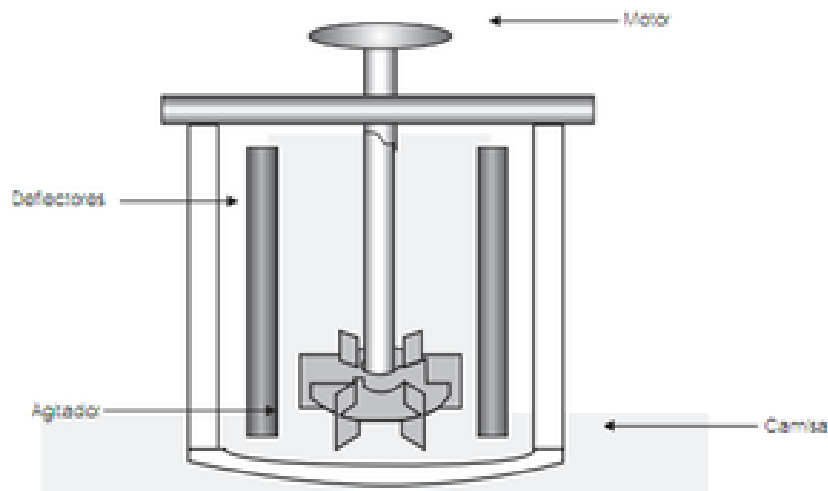


Figura 20: Esquema de deflectores y sistema de agitación [19]

En nuestro caso, se colocarán cuatro deflectores separados 90°.

Según las relaciones establecidas en la tabla 8 la relación entre el diámetro del tanque y el diámetro de los deflectores es:

$$\frac{D_b}{D_t} = 0,08 \div 0,1$$

Ec. 54

Por lo tanto:

$$D_b = 0,08 \cdot D_t = 0,08 \cdot 0,660 = 0,053 \text{ m}$$

$$D_b = 0,1 \cdot D_t = 0,1 \cdot 0,660 = 0,066 \text{ m}$$

Entre los dos valores extremos que puede tomar el diámetro de los deflectores, se ha escogido que sea:

$$D_b = 0,055 \text{ m}$$

La altura de los deflectores será de 0,9 metros desde la parte inferior de la parte cilíndrica del reactor.

La distancia de separación entre la pared del reactor y los deflectores la calcularemos con la relación:

$$\frac{f}{D_t} = 0,02$$

Ec. 55

Por lo tanto:

$$f = 0,02 \cdot D_t = 0,02 \cdot 0,660 = 0,013 \text{ m}$$

Así que la distancia entre la pared del reactor y los deflectores será de 0,013 m

5.3.8. Aireación

En las fermentaciones aeróbicas, el proceso de aireación es una de las partes más importantes. El proceso de la aireación está caracterizado por la transferencia de oxígeno entre la fase gas y la fase líquida.

Para que el nivel de oxígeno en la reacción se mantenga continuo, habrá que suministrar oxígeno de forma permanente al interior del biorreactor. El sistema para realizar este aporte de aire constante, se compondrá de: un compresor, una anilla de aportación de oxígeno y filtro para esterilizar el aire.

En apartados anteriores se ha indicado que era necesario un flujo de oxígeno de 1 vvm.

El volumen final del líquido en el interior del biorreactor, como se ha especificado es de 265 L.

Para calcular el caudal de aire necesario para aportar el oxígeno necesario en la fermentación, se utilizará la siguiente formula:

$$Q_g = 1 \frac{\text{m}^3 \text{ gas}}{\text{m}^3 \text{ ferm min}} \cdot \frac{1 \text{ min}}{60 \text{ s}} \cdot V_F$$

Ec. 56

Sustituyendo, tenemos:

$$Q_g = 1 \frac{m^3 \text{ gas}}{m^3 \text{ ferm min}} \cdot \frac{1 \text{ min}}{60 \text{ s}} \cdot 0,265 = 0,00441667 \frac{m^3}{s}$$

Por lo tanto necesitaremos un caudal de entrada de:

$$Q_g = 0,00441667 \frac{m^3}{s} \cdot \frac{1000 \text{ l}}{1 m^3} \cdot \frac{60 \text{ s}}{1 \text{ min}} = 265 \frac{L}{min}$$

Por lo tanto, se necesitará un caudal de aire de entrada de 265 L / minuto.

Para llevar a cabo las necesidades de aireación definidas previamente se utilizará una anilla pulverizadora de aire.

La anilla estará situada una distancia de 0,044 m por debajo de la turbina inferior.

5.3.9. Control de la temperatura

La temperatura a la que se lleva a cabo la fermentación es de 26°C. Ya que la temperatura ambiente en el laboratorio oscila entre los 22°C y los 25°C, y las fermentaciones producen calor, se ha decidido no crear ningún sistema de calentamiento o enfriamiento para dentro del tanque.

Aun así, se utilizara un termómetro que se colocará desde la parte superior del biorreactor mediante un puerto e irá conectado al sistema de aireación por si fuera necesario modificar la temperatura de entrada de aire para mantener la temperatura óptima en la fermentación.

Se ha escogido el modelo Therma Plus que se puede observar en la figura 21.



Figura 21: Termómetro [30]

5.3.10. Control del pH

Como se ha indicado, el valor óptimo de pH es de 3, pero se dará un rango de aceptación que será de pH 2,5 a 3,2. Para poder garantizar que el nivel de pH durante la fermentación se encuentra entre estos dos valores se utilizará un sistema de medición de pH colocado en uno de los puertos de la parte superior del biorreactor.

En caso de que durante la fermentación el nivel de pH se encuentre fuera del rango de aceptación, se avisará al operario para que corrija el nivel de pH introduciendo un ácido o una base.

Se ha escogido un pH-metro de la marca Bluelab que se puede observar en la figura 22.



Figura 22: Medidor de pH [31]

5.3.11. Espuma

Como se ha comentado anteriormente, se introducirá una tercera turbina por encima de la altura que cubre el líquido para romper la espuma que se genere.

Aun así se ha dejado suficiente espacio por encima de la altura cubierta por el líquido del fermentador para que la formación de espuma no obstruya los puertos situados en la parte superior del fermentador.

Por lo tanto, estos dos métodos para combatir la formación de espuma son suficientes para que el proceso de fermentación transcurra sin ningún problema.

5.3.12. Materiales

El material escogido para el biorreactor es el acero inoxidable AISI 316L.

Este tipo de acero inoxidable tiene características sobresalientes contra la corrosión y resistencia a altas temperaturas.

En nuestro caso, ya que estamos trabajando con un ácido es importante que el material escogido tenga una buena resistencia a la corrosión. [32]

5.3.13. Cálculo del grosor de la chapa

Para escoger el grosor de pared de acero para diseñar el reactor, se tendrá que hacer un cálculo previo para tener una idea de la magnitud que debemos escoger. [35]

A partir de la fórmula:

$$e = \frac{\rho \cdot d \cdot r}{\sigma_{adm} \cdot E_s}$$

Ec. 57

Dónde:

ρ : densidad del producto almacenado en kg/cm^3

d : nivel máximo de producto almacenado en cm

r : radio del cilindro en cm

σ_{adm} : tensión máxima admisible del material en kg/cm^2

E_s : eficiencia de soldadura según tipo de soldadura

Para el material escogido, el acero inoxidable 316L, el límite elástico es de:

$$\sigma_e = 2600 \frac{Kg}{cm^2}$$

Para calcular la tensión máxima admisible por el material, se usará la fórmula:

$$\sigma_{adm} = \frac{\sigma_e}{\gamma_s}$$

Dónde:

γ_s : coeficiente de seguridad

Por lo tanto, sustituyendo en la formula anterior y usando un coeficiente de seguridad de 1,5:

$$\sigma_{adm} = \frac{2600}{1,5} = 1733,33 \frac{Kg}{cm^2}$$

Usando los siguientes valores:

$$\rho = 0,001 \frac{Kg}{cm^3} ; d = 69,3 \text{ cm} ; r = 33 \text{ cm} ; \sigma_{adm} = 1733,33 \frac{Kg}{cm^2} ; E_s = 0,6$$

El valor del coeficiente de soldadura es para el caso de soldadura en doble V y no examinada.

$$e = \frac{0,001 \cdot 69,3 \cdot 33}{1733,33 \cdot 0,6} = 0,0022 \text{ cm}$$

Por lo tanto, el espesor de la chapa del reactor deberá de ser:

$$e = 0,022 \text{ mm}$$

Por motivos de seguridad, rigidez y a la hora de fabricar el reactor, se escogerá un grosor de chapa superior al calculado.

Así el valor escogido para el grosor de la chapa será de 3 mm de espesor.

5.3.14. Cálculo soporte del biorreactor

El biorreactor estará soportado por 4 patas en la parte inferior. Para conocer la sección mínima que han de tener estas patas se realizarán los siguientes cálculos. [38]

El volumen de líquido dentro del reactor será de:

$$V_{líquido} = 264,55 \text{ L} \cong 300 \text{ L}$$

Por lo tanto, la masa de líquido dentro del reactor será de:

$$Massa = \rho \cdot V$$

Sustituyendo, tenemos:

$$Massa_{líquido} = 0,001 \frac{kg}{cm^3} \cdot 300000 \text{ cm}^3 = 300 \text{ kg}$$

Suponiendo una masa del biorreactor de:

$$M_{reactor} = 150 \text{ kg}$$

Tenemos una masa total del conjunto biorreactor más contenido de:

$$M_T = 300 + 150 = 450 \text{ kg}$$

El cálculo de la sección del área de las patas se hará con la fórmula:

$$\sigma_{adm} = \frac{M_T}{S}$$

Ec. 58

Dónde S es la sección de las patas que soportan el reactor.

Tenemos, por lo tanto:

$$S = \frac{M_T}{\sigma_{adm}}$$

Ec. 59

Como se usaran 4 patas, cada pata soportará una masa de $M_T / 4$.

$$S_1 = \frac{M_1}{\sigma_{adm}}$$

Ec. 60

Sustituyendo en la ecuación anterior, tenemos:

$$S_1 = \frac{112,5}{1733,33} = 0,0649 \text{ cm}^2$$

Por lo tanto, cada pata deberá tener una sección mínima de $6,49 \text{ mm}^2$.

Para dimensionar el diámetro de las patas, usaremos la fórmula de la sección de una circunferencia:

$$S = \frac{\pi \cdot d^2}{4}$$

Ec. 61

Tenemos:

$$d = \sqrt{\frac{4 \cdot S}{\pi}} = 0,2875 \text{ cm}$$

Por lo tanto, el diámetro mínimo de las patas será de 2,875 mm.

Esta situación únicamente se daría en estado estacionario en la cual el biorreactor está quieto en el laboratorio. Se realizarán una serie de hipótesis más extremas que se pudieran dar a lo largo de la vida útil del biorreactor.

La primera hipótesis será el caso en que estamos colocando el biorreactor en su posición en el laboratorio, suponiendo que se eleve mediante un montacargas u otro sistema de elevación, al colocarse en el suelo cabe la posibilidad de que todo el peso este soportado únicamente por una sola pata.

Por lo tanto se realizará el mismo cálculo que se ha realizado en el sistema estacionario pero en este caso la masa que soporta es la total.

$$S_1 = \frac{M_T}{\sigma_{adm}}$$

$$S_1 = \frac{450}{1733,33} = 0,2596 \text{ cm}^2$$

Por lo tanto, en este caso se necesitará un diámetro mínimo de:

$$d = \sqrt{\frac{4 \cdot S}{\pi}} = 0,5749 \text{ cm}$$

El diámetro mínimo de cada pata será de 5,749 mm.

También, se estudiará la posibilidad de que se arrastre el biorreactor, suponiendo en el peor de los casos, que mientras se arrastra el reactor choca contra un escalón.

En este caso habría una combinación de esfuerzo normal y de momento flector. El cálculo quedaría de la siguiente forma:

$$\sigma = \frac{Masa_T}{S} + \frac{M_z}{I_z} \text{ y } \leq \sigma_{adm}$$

Ec. 63

El esfuerzo normal se puede menospreciar para el cálculo y luego se hará la comprobación de que sea correcta esta hipótesis.

El cálculo se realizará con un valor extremo de carga que soporta el reactor al chocar con el escalón. Suponiendo un valor de momento de 600 Kg·m.

Utilizando la ecuación de Navier:

$$\sigma = -\frac{M_z}{I_z} y$$

Ec. 64

Desarrollando la ecuación:

$$r = \sqrt[3]{\frac{M_z \cdot 4}{\pi \cdot \sigma}} = 3,5323 \text{ cm}$$

Por lo tanto, en este caso extremo, el valor del diámetro de la pata sería de 70,65 mm.

Así el diámetro escogido para las patas del fermentador es de 75 mm.

Haciendo la comprobación con la ecuación 63 se observa que el término del esfuerzo normal es muchísimo más pequeño que el del momento flector, por lo tanto la hipótesis hecha para el cálculo de sección mediante momento flector es correcto.

También hay que estudiar la posibilidad de pandeo, en este caso se estudiará únicamente la opción más desfavorable en que todo el peso esta soportado por una sola pata. Mediante la fórmula:

$$P_{crti} = \frac{\pi^2 \cdot E \cdot I}{L^2}$$

Ec. 62

Dónde E es el módulo de Young del material, I es el momento de inercia y L es la longitud característica. [38]

Como estamos en el caso de que un extremo de la pata estará encastado al biorreactor y el otro apoyado en el suelo, estamos ante el caso en que un extremo esta encastado y el otro libre. Por lo tanto la longitud L será:

$$L = 2 \cdot l$$

Donde l es la longitud de la pata.

Por lo tanto, tendremos:

$$L = 2 \cdot 48,3 = 96,6 \text{ cm}$$

Sustituyendo en la ecuación 62 y haciendo el cálculo a esfuerzo normal:

$$P_{adm} = \frac{P_{crit}}{\gamma_s}$$

Usando como coeficiente de seguridad el valor más grande posible, 3.

$$P_{adm} = \frac{\frac{\pi^2 \cdot E \cdot I}{L^2}}{\gamma_s}$$

Teniendo en cuenta:

$$E = 2,1 \cdot 10^6 \frac{kg}{cm^2} ; I (r = 3,75 cm) = 155,32 cm^4$$

Por lo tanto, tenemos una carga admisible de:

$$P_{adm} = 115 t$$

Ya que la carga admisible en la hipótesis de pandeo es muy superior a la carga a la que estará sometido el biorreactor, el valor de 75 mm de diámetro para las patas se considera adecuado ya que cumple las 3 hipótesis propuestas para el cálculo.

5.3.15. Tapa

La tapa superior será de forma semiesférica y estará unida a la parte cilíndrica del biorreactor mediante tornillos.

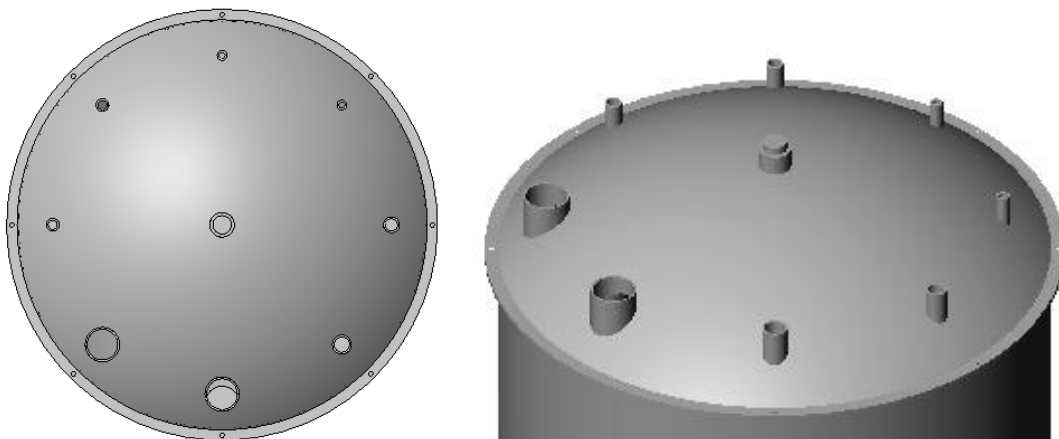


Figura 23: Vista de la tapa del biorreactor.

5.3.16. Puertos

La tapa superior del biorreactor contará con una serie de puertos.

Como se observa en la figura 23 la tapa tendrá dos puertos de alimentación donde se añadirá el sustrato y reactivos para la fermentación.

También contará con dos puertos donde se introducirá el termómetro y el sistema de control de pH.

Además, habrá un puerto para la entrada del sistema de aireación y otro para la salida de aire, para que la presión se mantenga constante.

Por último, contará también con dos puertos extras por si hay que añadir en algún momento cualquier otro elemento.

5.3.17. Salidas

En la parte inferior del reactor, habrá una tubería de salida para el producto final.

5.3.18. Válvulas

Todas las alimentaciones de entradas y salidas utilizarán válvulas para regular el caudal. El tipo de válvula escogido es la válvula de bola, ya que tienen un diseño sencillo y son económicas.



Figura 24: Válvula de bola

La regulación del canal mediante este tipo de válvula se puede hacer de forma manual o mediante un actuador. En nuestro caso y debido a que el diseño del reactor es de planta piloto, la regulación del caudal se hará de forma manual.

5.4. Diseño del biorreactor y planos

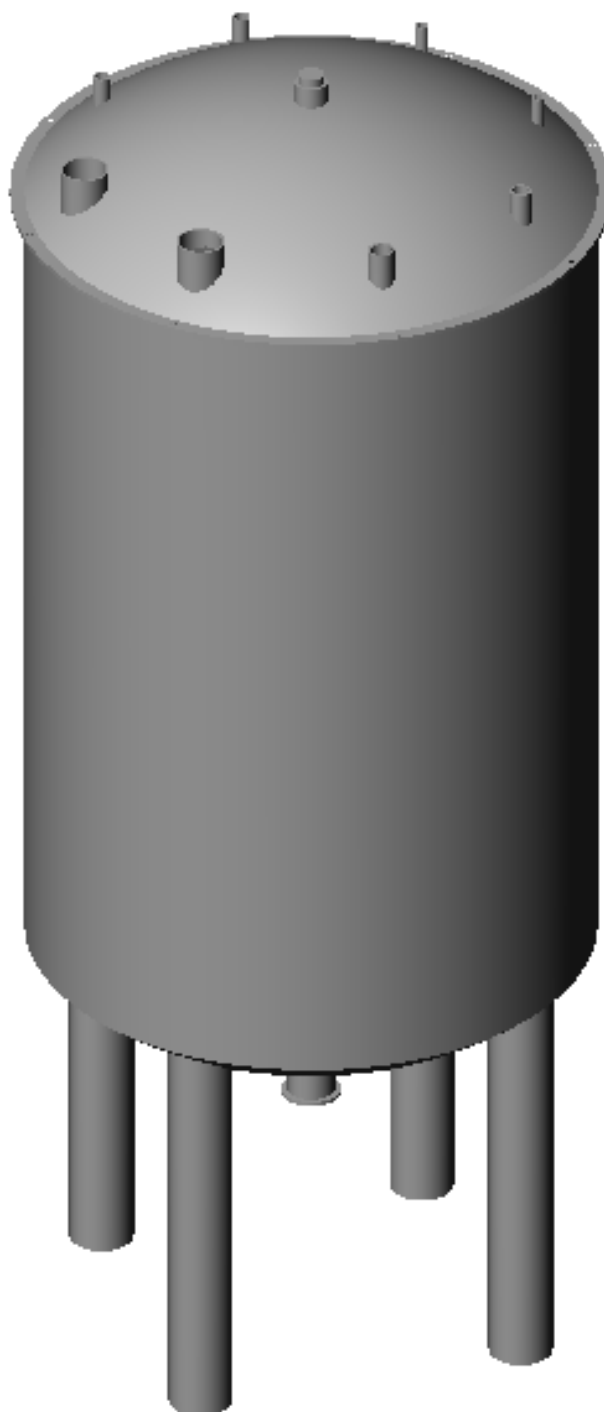


Figura 25: Vista en perspectiva

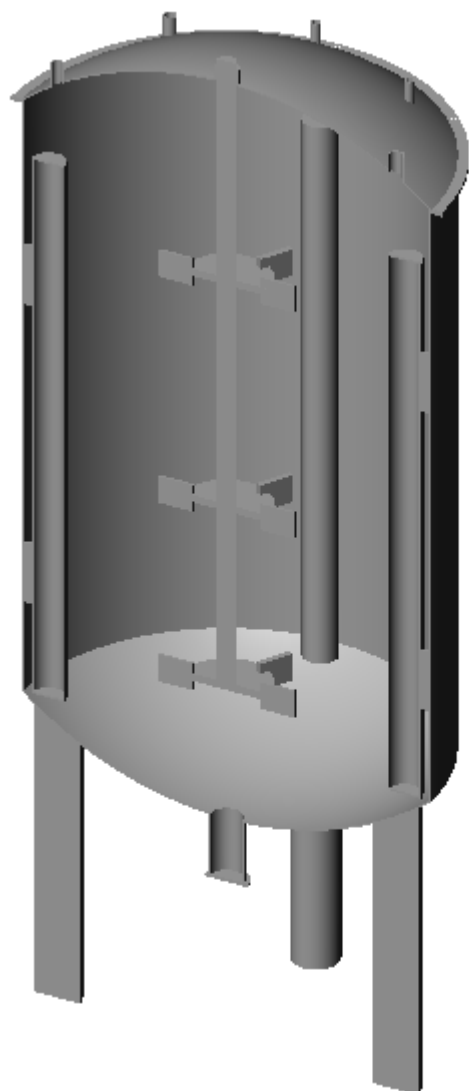


Figura 26: Vista de sección en perspectiva.
agitación



Figura 27: Vista de detalle del sistema de
agitación



Figura 28: Vista de alzado



Figura 29: Vista de sección de alzado



Figura 30: Vista de perfil

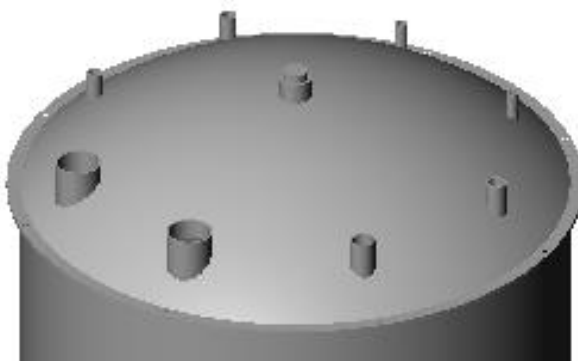
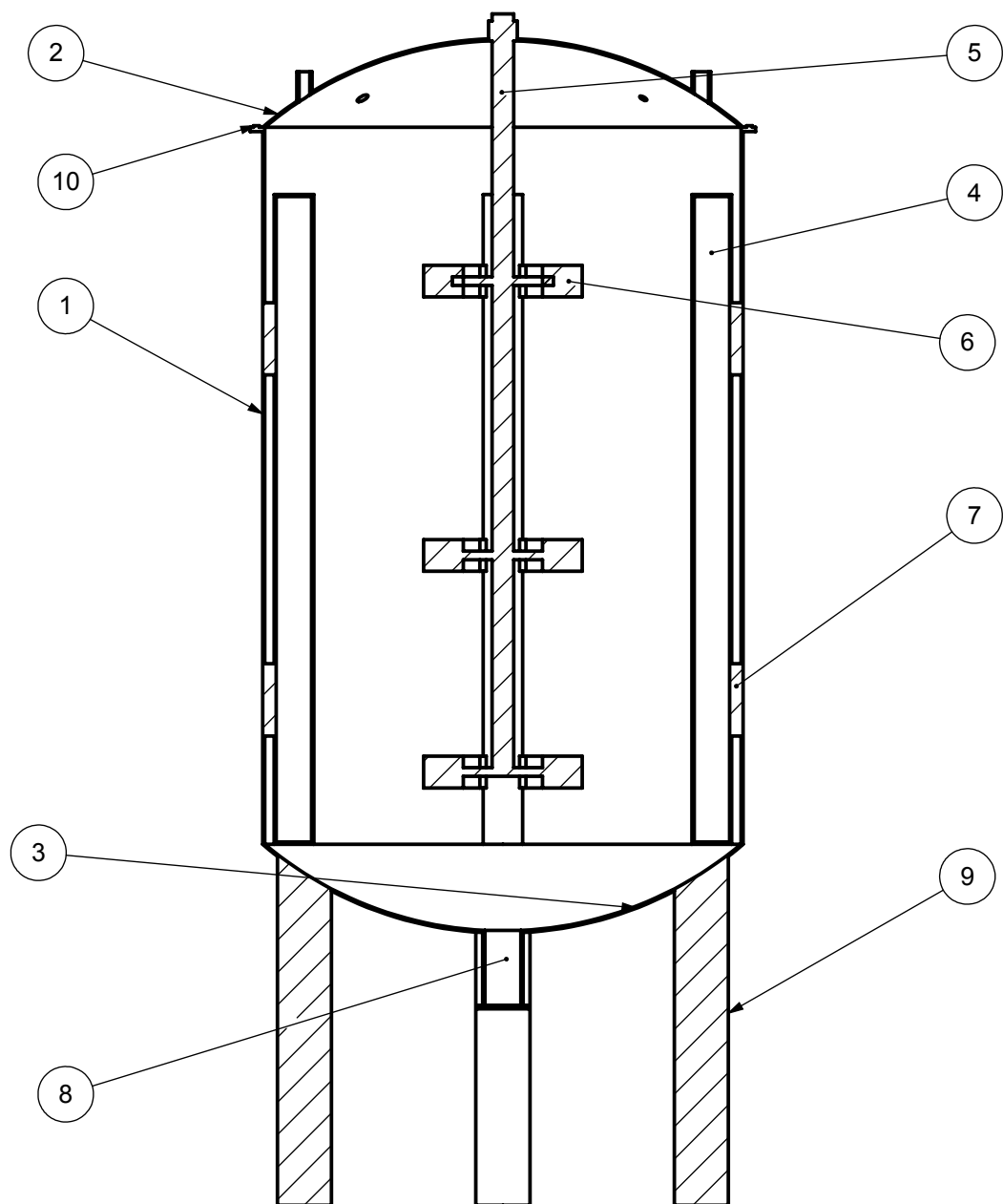


Figura 31: Vista de detalle de la tapa del biorreactor



Número pieza	Nombre pieza	Cantidad	Material
1	Cuerpo	1	Acero 316L
2	Tapa superior	1	Acero 316L
3	Tapa inferior	1	Acero 316L
4	Deflectores	4	Acero 316L
5	Eje turbinas	1	Acero 316L
6	Turbinas	3	Acero 316L
7	Nervios	8	Acero 316L
8	Canal salida	1	Acero 316L
9	Patas	4	Acero 316L
10	Tornillos	8	Acero 316L

Nombre

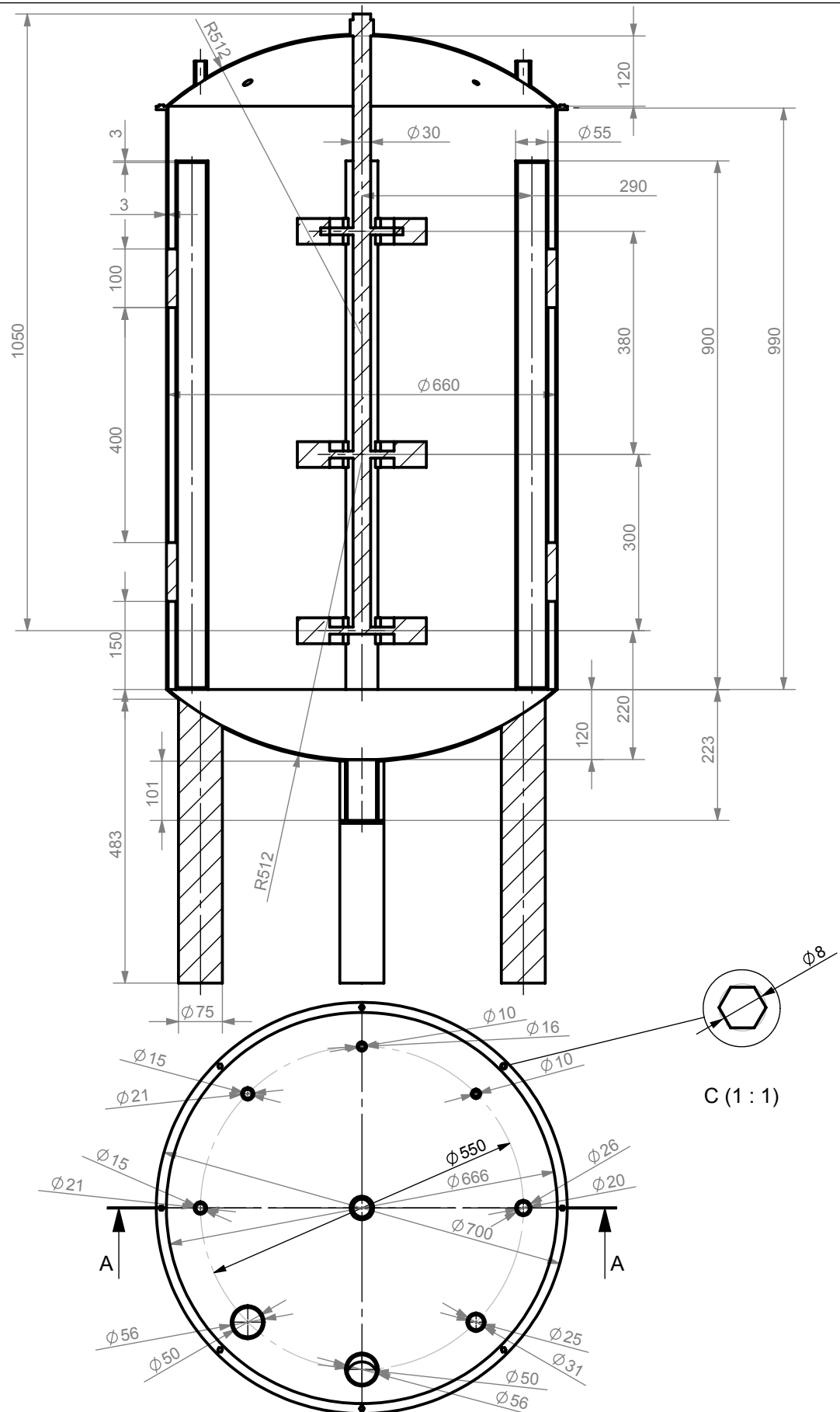
Escala

Vicente Francisco Sanz Martinez

1:10

Título

Diseño de un fermentador para la obtención de biomoléculas



Nombre

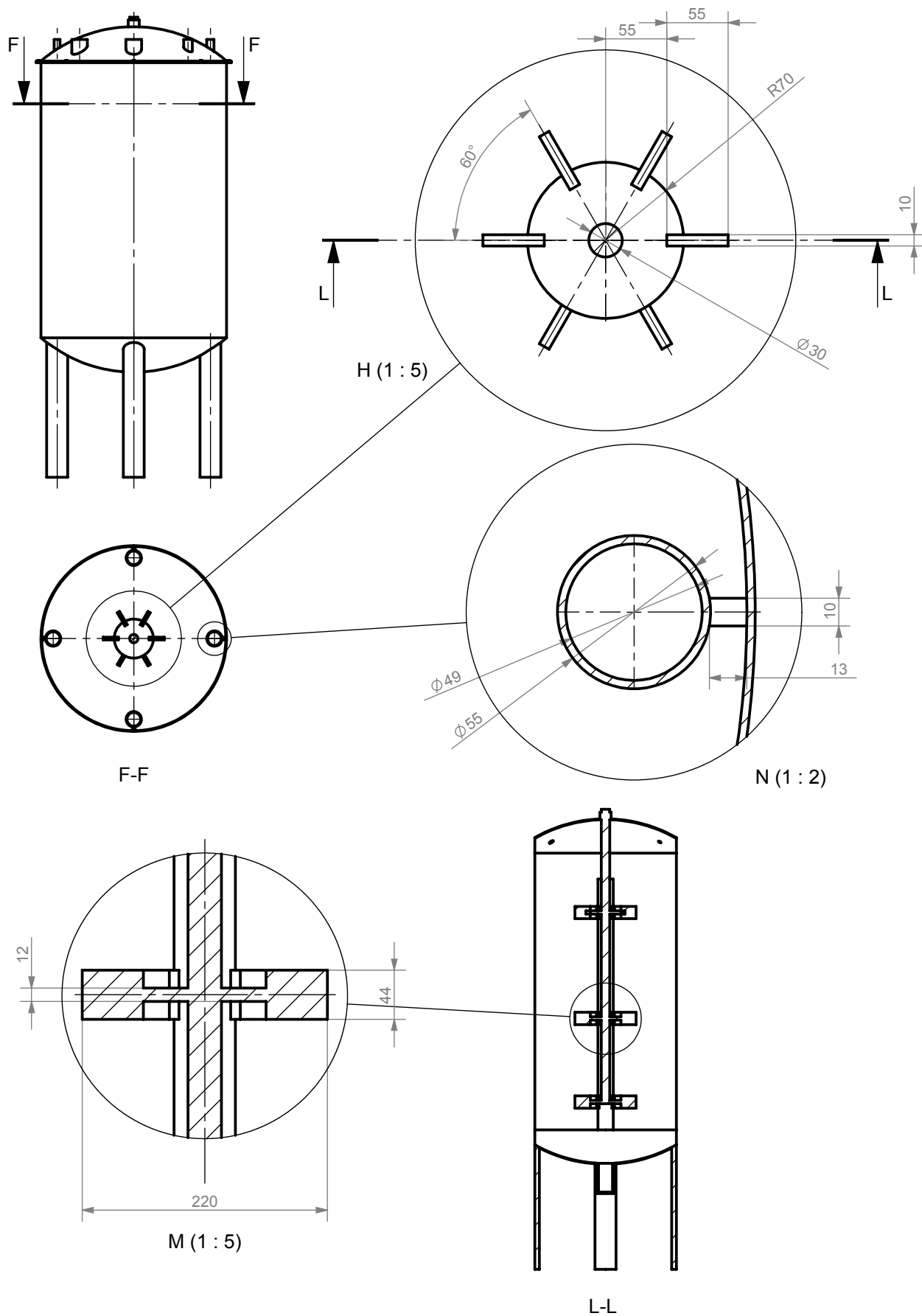
Vicente Francisco Sanz Martinez

Escala

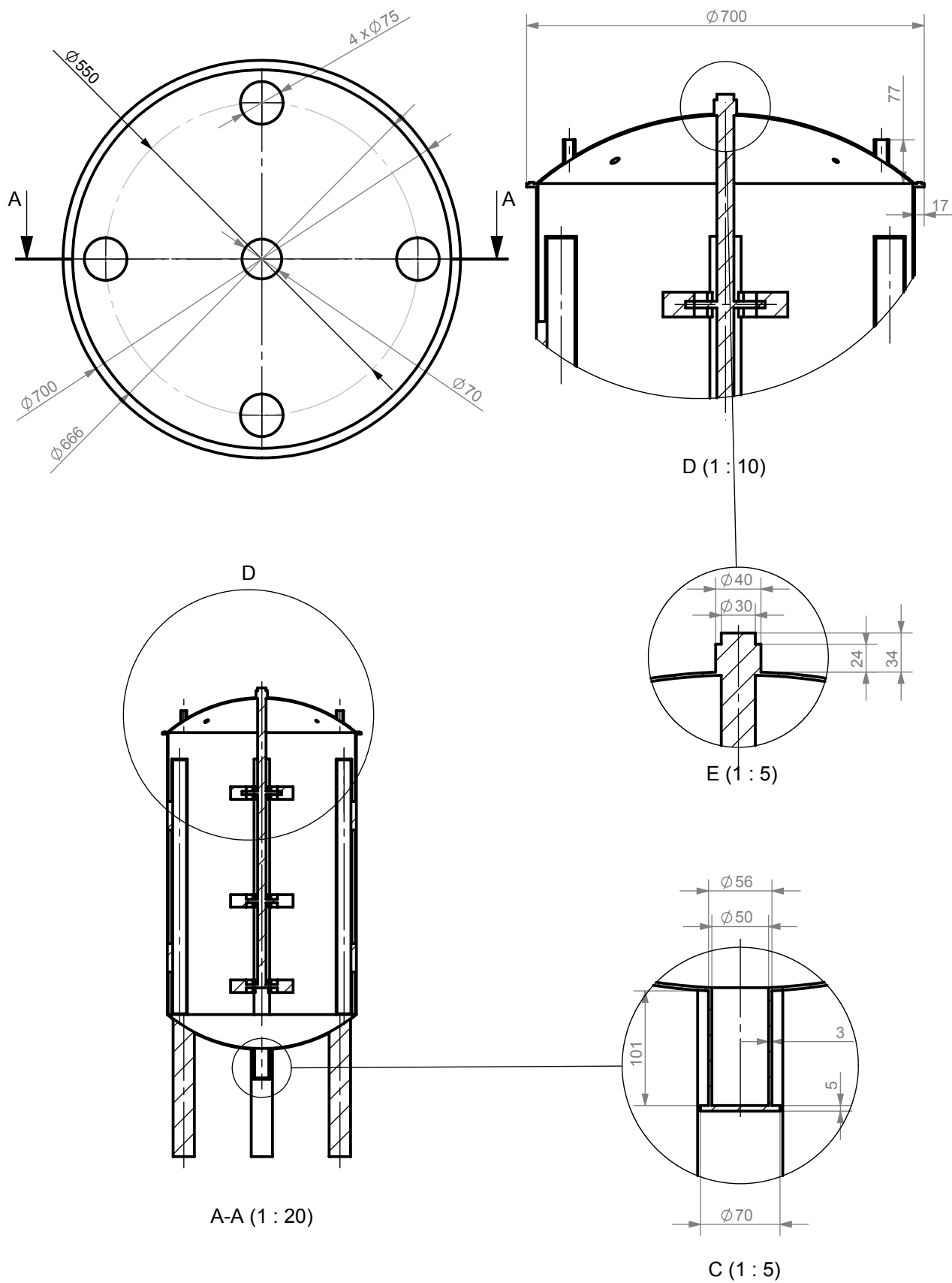
1:10

Título

Diseño de un fermentador para la obtención de biomoléculas



Nombre	Escala
Vicente Francisco Sanz Martinez	1:20
Título	
Diseño de un fermentador para la obtención de biomoléculas	



Nombre	Escala
Vicente Francisco Sanz Martinez	1:10
Título	
Diseño de un fermentador para la obtención de biomoléculas	

6. Seguridad

En cualquier circunstancia, la probabilidad de que ocurra un accidente, por muy pequeña que sea, nunca es cero. Por este motivo, como es prácticamente imposible eliminar la probabilidad de accidente, lo que se debe hacer es minimizarla. Para reducir los riesgos asociados a cualquier actividad hay que seguir tres pasos fundamentales:

- Identificar las fuentes de peligro
- Conocer los riesgos a cada tipo de peligro
- Saber cómo hay que comportarse en todo momento

En nuestro caso, estamos ante un reactor biológico, así que tendrán que tomarse medidas de seguridad específicas para este tipo de laboratorios.



Figura 32: Símbolo de peligro biológico [33]

El producto que estamos tratando en el biorreactor es de nivel de riesgo I y no necesita ningún equipo especial de seguridad. Por lo tanto se aplicaran las medidas de laboratorio básico (NTP 376 y 432). [33][34]

El personal del laboratorio deberá usar en todo momento un equipo de protección que constará de:

- Bata de laboratorio
- Guantes
- Gafas de protección
- Protección para el pelo
- Calzado de seguridad



Figura 33: Equipo de protección

El biorreactor no trabaja a altas temperaturas y la presión de trabajo es la atmosférica, por lo tanto no se tomarán medidas de seguridad específicas en este aspecto.

Para la limpieza del reactor se utilizará agua caliente o vapor para poder llegar a las zonas de difícil acceso.

En la planta piloto, tendrá que haber duchas y lavaojos.

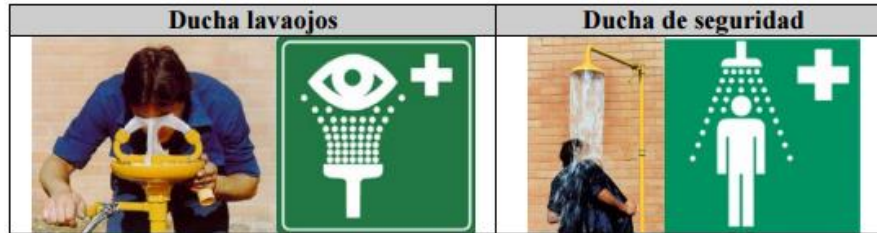


Figura 34: Ducha lavaojos y ducha de seguridad

Aun así, todos los operarios del laboratorio deberán tener un conocimiento de los riesgos que pueden aparecer durante su trabajo.

7. Estudio económico

A continuación se detalla el escandallo. Este estudio nos servirá para hacernos una idea de cuánto costará materializar el diseño del biorreactor.

Este estudio tiene en cuenta el coste del equipo, el montaje y el coste de ingeniería invertido en el diseño del biorreactor.

Se ha detallado el coste de la materia prima, por otra parte sistemas de medida necesarios en el fermentador, el coste de operación para poder montar el biorreactor y se ha fijado la cantidad de imprevistos en un 15 %.

El estudio realizado es orientativo para un reactor a nivel de planta piloto, en caso de querer ampliar el proyecto a nivel de producción industrial el coste sería muy diferente. Habría que hacer un análisis mucho más detallado.

	Componente	Precio	Unidades	Cantidad	Precio total (€)
Biorreactor	Cuerpo AC316L 3 mm de grosor	68,60	€/kg	50 kg	3430
	Tapas AC316L 3 mm de grosor	68,60	€/kg	16 kg	1097,60
	Patas AC316L	68,60	€/kg	68 kg	4664,80
	Deflectores	68,60	€/kg	14 kg	960,40
	Tornillos	0,65	€/u	8 u	5,20
Agitación y aireación	Motor 3 kW	725,73	€/u	1 u	725,73
	Turbina Rushton	140	€/u	3 u	420
	Sistema aireación	600	€/u	1 u	600
Sistemas de control	Termometro	135,45	€/u	1 u	135,45
	pH-metro	193,87	€/u	1 u	193,87
Montaje	Coste de operación	45	€/h	80 h	3600
Extras	Imprevistos		15 %		2374,96
Subtotal					18 208,01
Diseño	Ingenieros	20	€/h	360 h	7200
Total					25 408,01

El coste final del reactor teniendo en cuenta el diseño, el montaje y los materiales utilizados es de 25 408,01 €.

Si se añade un 21 % de IVA, el precio final del fermentador sería de 30 743,70 €.

8. Impacto ambiental

El impacto ambiental del trabajo se va a centrar en el cálculo de contaminantes emitidos a la atmósfera debido a las operaciones de fermentación efectuadas en un año.

Las emisiones debidas a la fermentación únicamente provienen del gasto energético debido a la agitación del motor.

Teniendo en cuenta que se utilizará un motor de 3,5 kW y cada fermentación dura 6 días, podemos obtener la cantidad de kWh por fermentación:

$$3,5 \text{ kW} \cdot 6 \frac{\text{días}}{\text{fermentación}} \cdot 24 \frac{\text{h}}{\text{día}} = 504 \frac{\text{kWh}}{\text{fermentación}}$$

Los gastos energéticos de las sondas de control son despreciables.

Como se realizan 45 fermentaciones al año, el total de energía consumida por fermentación en un año será de:

$$504 \frac{\text{kWh}}{\text{fermentación}} \cdot 45 \frac{\text{fermentaciones}}{\text{año}} = 22680 \frac{\text{kWh}}{\text{año}}$$

De acuerdo con la Oficina Catalana del Cambio Climático [37], cada kWh emite 308 g de CO₂ que contribuye al calentamiento global. Este dato está basado en el mix energético de Catalunya.

Por lo tanto se calculará que cantidad de CO₂ se emite a la atmosfera en un año debido al gasto energético de la agitación del motor.

$$22680 \text{ kWh} \cdot 0,308 \frac{\text{kg CO}_2}{\text{kWh}} = 6985,44 \text{ kg CO}_2$$

Otro dato interesante sería el cálculo del consumo de agua para llevar a cabo las operaciones.

Cada fermentación consume 265 L de agua. Por lo tanto, en un año se utilizará:

$$0,265 \frac{\text{m}^3 \text{ agua}}{\text{fermentación}} \cdot 45 \frac{\text{fermentaciones}}{\text{año}} = 11,925 \frac{\text{m}^3 \text{ agua}}{\text{año}}$$

Este dato debería doblarse para considerar los gastos debidos a las operaciones de limpieza y mantenimiento. Así el consumo anual de agua será de:

$$23,85 \frac{m^3 \text{ agua}}{\text{año}}$$

Es un dato muy pequeño, teniendo en cuenta que una familia corriente en nuestro país consume esta cantidad de agua en 2 meses.

Finalmente indicar que tanto la materia prima (glucosa) como los residuos son biodegradables y pueden ser tratados con tecnologías conocidas. Estos productos, además, proceden de fuentes sostenibles y, por lo tanto, no contribuyen al calentamiento global.

9. Organización del proyecto

	Febrero				Marzo				Abril				Mayo				Junio				Julio			
	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10	S11	S12	S13	S14	S15	S16	S17	S18	S19	S20	S21	S22	S23	S24
Búsqueda de la temática del proyecto																								
Viabilidad e interes en el proyecto																								
Investigación y documentación																								
Definir la estructura del proyecto																								
Bases teóricas de cada apartado																								
Estudio de las opciones de diseño																								
Diseño y dimensionado del reactor																								
Realización de los planos																								
Análisis de seguridad																								
Estudio económico																								
Estudio de impacto ambiental																								
Redacción del proyecto																								
Revisión general del proyecto																								
Presentación del documento escrito																								
Defensa oral del proyecto																								

Conclusiones

El objetivo principal de este trabajo era el diseño de un fermentador para la producción de 75 kg/año de ácido tartárico. Este objetivo se ha cumplido y, también, se han logrado cumplir los objetivos secundarios.

Después de realizar una búsqueda de información de diferentes estudios sobre la obtención de ácido tartárico mediante fermentación, se ha escogido el estudio realizado por Kotera, Umehara, Kodama y Yamada en 1972 en el que se obtiene ácido tartárico a partir de la bacteria *Acetobacter suboxydans* var α IFO 3256, ya que se ha considerado el más adecuado para lograr los objetivos planteados. Utilizando el método planteado por estos investigadores, se puede obtener una cantidad de ácido tartárico de 6,3 g/L en fermentaciones de 6 días de duración.

El tipo de biorreactor seleccionado ha sido el de tanque agitado, que trabajará por lotes debido a que tiene suficiente versatilidad para trabajar en una planta piloto. El fermentador tendrá unas dimensiones de la parte cilíndrica de 0,990 m de altura y 0,660 m de diámetro. También contará con dos cúpulas de 0,120 m de altura. La agitación se llevará a cabo mediante 2 turbinas Rushton de 6 palas, aunque se añadirá una tercera turbina en la parte superior del líquido para romper la espuma que se forme durante la fermentación. Para ayudar a la agitación, el reactor contará con 4 deflectores cilíndricos.

El fermentador tendrá un volumen total de 382 L. Con este fermentador diseñado se puede obtener una cantidad de 1,667 kg de ácido tartárico por lote, que trabajando durante 45 semanas al año se lograrán producir 75 kg/año de ácido tartárico.

El material escogido para la fabricación del biorreactor es el acero inoxidable 316 L por sus características idóneas para trabajar con este tipo de procesos.

Se ha calculado el valor mínimo del grosor de la chapa de la pared del fermentador, este valor es de centésimas de milímetro, que sobredimensionándolo para que sea operativo y seguro se ha escogido un valor final de 3 mm.

La fermentación se llevará a cabo en unas condiciones de 26 °C, pH 3, 1 vvm y la agitación se realizará a 400 rpm mediante un motor de 3,5 kW.

El coste final de fabricación del fermentador es de 25 408,01 €. También se ha realizado un estudio de impacto ambiental en el que se han calculado las emisiones de CO₂ por kg de producto, las emisiones debidas a la fermentación en un año será de 6985,44 kg CO₂.

Agradecimientos

Quiero agradecer a mi tutor Jordi Bou, por la ayuda en la realización de este trabajo y la oportunidad de poder realizarlo. También a mi familia que me ha apoyado desde el primer momento que empecé a estudiar.

.

Bibliografía

- [1] **Biorrefinerías.** <http://www.aebig.org/biorefinerías/> [En línea] Marzo 2017.
- [2] **Biorrefinerías.** <https://es.wikipedia.org/wiki/Biorrefiner%C3%ADa> [En línea] Marzo 2017.
- [3] **Química verde.** <http://www.ugr.es/~quiores/qverde/intro.htm> [En línea] Marzo 2017.
- [4] Francisco García Calvo-Flores y José A. Dobado. *Química Sostenible: una alternativa creíble*. Anales de la Química, Vol. 104, 205~210, 2008.
- [5] **Química sostenible.** <https://www.ecologiaverde.com/que-es-la-quimica-verde/> [En línea] Marzo 2017.
- [6] **Ácido Tartárico.** https://es.wikipedia.org/wiki/%C3%81cido_tart%C3%A1rico [En línea] Marzo 2017.
- [7] Jean-Maurice Kassaian. *Tartaric Acid*, en Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry. Wiley, 2005.
- [8] **Ácido Tartárico.** <http://tartaric.com/es/acido-tartarico/> [En línea] Marzo 2017.
- [9] Toru Kodama, Uichiro Kotera & Koichi Yamada. *Induction of Mutants from the Tartrate Producing Bacterium, Gluconobacter suboxydans and their Properties*. Agricultural and Biological Chemistry, Vol. 36, No. 8, p. 1299~1305, 1972.
- [10] Uichiro Kotera, Kazuyoshi Umehara, Toru Kodama & Koichi Yamada. *Isolation Method of Highly Tartaric Acid Producing Mutants of Gluconobacter suboxydans*. Agricultural and Biological Chemistry, Vol. 36, No. 8, p. 1307~1313, 1972.
- [11] Asutosh Kumar Pandey. *Production of Tartaric Acid by LSCF Process*. National Chemical Laboratory, Pune, Maharashtra, India. IJAPBC-Vol.2 (3), Jul-Sep, 2013.
- [12] Ronnie Willaert, Luc De Vuyst. *Continuous production of L (+) - tartaric acid from cis-epoxysuccinate using a membrane recycle reactor*. Applied Microbiology Biotechnology, Vol. 71, Number 2, p. 155-163. 2006.
- [13] **Biorreactores.** <https://es.wikipedia.org/wiki/Biorreactor> [En línea] Marzo 2017.
- [14] **Biorreactores.** Apuntes Estrategias biotecnológicas. Universidad Nacional de San Luis, Argentina.
<http://www0.unsl.edu.ar/~organica/archivos/Documento%20didactico.pdf> [En línea] Marzo 2017.

- [15] **Biorreactores.** <http://tesis.uson.mx/digital/tesis/docs/1608/Capitulo2.pdf> [En línea] Marzo 2017.
- [16] **Biorreactores.** Apuntes. Fundación universitaria Tecnológico Comfenalco, Cartagena.
http://aulavirtual.tecnologicocomfenalcovirtual.edu.co/aulavirtual/pluginfile.php/484784/mod_label/intro/6_BIORREACTORES.pdf [En línea] Marzo 2017.
- [17] **Biorreactores.** <https://sites.google.com/site/bioingenieriauv15/unidad-2-biorreactores-y-su-aplicacion> [En línea] Marzo 2017.
- [18] Enrique Gregorio Núñez Yapias. *Biorreactores*. Universidad Nacional del Centro del Peru, Tarma, 2013.
- [19] **Biorreactores.** <http://procesosbio.wikispaces.com/Diseño+Básico> [En línea] Marzo 2017.
- [20] **Biorreactores.** Universidad de Salamanca. Apuntes.
<http://webcd.usal.es/Web/educativo/ampliacion3/fermentador.htm> [En línea] Marzo 2017.
- [21] Jordi Bou. *Apuntes de la asignatura Biorreactores*. Universitat Politècnica de Catalunya. 2012.
- [22] **Biorreactores.** <http://www.biologia.edu.ar/bacterias/nutric~2.htm> [En línea] Marzo 2017.
- [23] Sánchez Gonzales y Jesús Alexander. *Determinación de la curva de crecimiento*. Universidad Nacional de Trujillo, 2012.
- [24] Nolasco Terrón Eder Yair. *Cinética de crecimiento celular: Ecuación de Monod*. Universidad Autónoma de México. 2015.
- [25] Altagracia Jiménez Díaz. *Curva de crecimiento Bacteriano*. Universidad Autónoma de Santo Domingo. 2015
- [26] **Parámetros de rendimiento.** Diseño de una planta piloto para la producción de bioetanol.
<http://bibing.us.es/proyectos/abreproy/20046/fichero/Anexo%252FANEXO+6.pdf>
[En línea] Abril 2017.
- [27] Peter F. Stanbury, Allan Whitaker and Stephen J. Hall. *Principles of Fermentation Technology*. 3ª edición, Elsevier. Página 465, 2016.

- [28] **Biorreactor tipo Batch.** <https://sites.google.com/site/bioingenieriauv15/unidad-2-biorreactores-y-su-aplicacion/2-1-reactor-tipo-batch> [En línea] Abril 2017.
- [29] Vladimir Castillo Uribe. *Diseño y cálculo de un agitador de fluidos*. Universidad del Bío-Bío, Chile, 2013.
- [30] **Termómetro.** https://www.termometros.com/es/Term%C3%B3metro-digital-con-sonda-intercambiable-Therma-Plus?gclid=CjwKEAjwr_rIBRDJzq-Z- [En línea] Mayo 2017.
- [31] **Medidor de pH.** https://medidordeph.com/phmetro-solucion-bluelab.html?store=default&gclid=CjwKEAjwr_rIBRDJzq-Z-LC_2HgSJADoL57HMDW-uv8P9-FKxhA8hLaYHDPCu7QMaFcyorMPeF99yhoCh9_w_wcB [En línea] Mayo 2017.
- [32] **Propiedades del material.** <http://www.acerosymetalescuautilan.com.mx/catalogo/acero-inodixable/109-acero-inoxidable-austenitico-316l.html> [En línea] Mayo 2017.
- [33] *NTP 376. Exposición a agentes biológicos: seguridad y buenas prácticas de laboratorio*. Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo.
- [34] *NTP 432. Prevención del riesgo en el laboratorio. Organización y recomendaciones generales*. Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo.
- [35] *Diseño de tanques de almacenamiento*. Universidad de Granada 2010.
- [36] **Cálculo volumen cúpula.** https://es.wikipedia.org/wiki/Casquete_esf%C3%A9rico [En línea] Abril 2017.
- [37] **Factor de emisión asociado a la energía eléctrica.** http://canviclimatic.gencat.cat/ca/reduex_emissions/factors_demissio_associats_a_l_energia/ [En línea] Junio 2017
- [38] **Cálculo patas.** <http://www.upc.edu/prismatic/prismatic.html> [En línea] Junio 2017